Anno XIV - Nuova Serie N. 4

BOLLETTINO
DELLA R. STAZIONE DI PATOLOGIA VEGETALE

Ricerche citologiche sul processo di germinazione delle clamidospore di " Urocystis tritici „ Koern.

I primi AA. che si sono occupati della germinazione di clamidospore appartenenti al gen. *Urocystis* sono stati Kühn, Wolff e Prillieux studiando il comportamento di *Ur. occulta*.

La descrizione del processo fatta da questi AA. presso a poco coincide: la clamidospora germinando produce un promicelio all'estremità del quale appaiono da due a sei sporidi che molto raramente sono in connessione l'uno con l'altro; essi germinano subito dopo la loro formazione.

Prillieux ha descritto pure la germinazione dell'*Ur. Violae* ed in questo fungo il processo si svolgerebbe come quello già descritto per *Ur. occulta,* solo che all'apice degli sporidi assottigliati si avrebbe la formazione di un conidio.

Brefeld in *Ur. occulta, Ur. Anemones, Ur. Filipendulae* ed *Ur. Violae* ha confermato le descrizioni degli AA. precedenti per ciò che riguarda *Ur. occulta* e *Ur. Violae,* in quest'ultima però avrebbe osservato che il conidio può produrre a sua volta una catena di conidi di cui però solo l'ultimo conterrebbe citoplasma; ha inoltre trovato che le altre due *Urocystis* da lui studiate si comportano anch'esse come *Ur. occulta.* Ritiene che gli sporidi siano da interpretarsi come sterigmi e che solo *Ur. Violae* sia capace di formare conidi in colture artificiali, mentre suppone che le altre tre specie li formino soltanto quando si trovano in condizioni naturali.

Mc. Alpine ha trattato la germinazione di *Ur. tritici* descrivendola come appartenente allo stesso tipo di quella di *Ur. occulta*.

Segue poi Parravicini che si è occupato di *Ur. Anemones* e di *Ur. Violae* e per il primo ha cominciato a studiare anche il comportamento dei nuclei: per *Ur. Anemones* dice di aver osservato che il promicelio forma lunghi filamenti micelici formati da poche cellule, ciascuna contenente un nucleo. Ben presto essi si distaccano e si allungano. La copulazione è difficile ad osservarsi: essa ha luogo per dissolvimento della parete tra due cellule contigue: in una di esse passa tutto il contenuto dell'altra. I filamenti divenuti così binucleati, continuano ad allungarsi.

Per ciò che riguarda *Ur. Violae* ha osservato che il promicelio presenta all'apice un nucleo che si divide dando origine a 4-8 nuclei che passano, uno per ciascuna, in altrettante protuberanze terminanti con un filamento corto e sottile al cui apice si forma un conidio fusiforme. I nuclei passano poi nei conidi che in seguito si disarticolano e si fondono.

Nel 1921 Kniep e l'anno dopo Rawitscher hanno descritto la germinazione di *Ur. Anemones* l'uno e di *Ur. Violae* l'altro ed i due funghi, a parte il numero degli sporidi che si formano, si comportano allo stesso modo. Entrambi gli AA. hanno osservato i fenomeni di fusione che avvengono per mezzo di un canale di coniugazione tra due sporidi o tra il promicelio ed uno sporidio. Quanto è stato da loro descritto coincide con quanto aveva già mostrato Wolff nei suoi disegni rappresentanti clamidospore di *Ur. occulta* in germinazione.

A queste osservazioni seguono quelle eseguite da Noble su *Ur. tritici;* però questo A. non ritiene di poter affermare l'esistenza costante di un processo di coniugazione. I suoi disegni mostrano che all'apice del promicelio si sviluppano da 2 a 4 sporidi; un nucleo passa dal promicelio in ciascun sporidio; questi in seguito produ-

cono sottili tubi germinativi che diventano binucleati con la migrazione e la divisione dell'unico nucleo. Solo in pochi casi ha osservato coniugazione tra gli sporidi ed allora « sembrò come se l'unico nucleo di ciascun sporidio coniugante migrasse nel tubo germinativo di fusione ».

Considerando le ricerche che ho brevemente esposte in ordine cronologico si può giungere alla conclusione che gli studi più recenti sono riusciti ad eliminare molte incertezze ed a stabilire per tutte le forme prese in esame un tipo di germinazione fondamentalmente identico per tutte le *Urocystis* e cioè il tipo originalmente descritto per *Ur. occulta* da Kühn, più tardi da Wolff e completato citologicamente da Kniep per *Ur. Anemones* (1).

Tra le specie considerate, una però ancora rimane in posizione non chiara : *Ur. Filipendulae* studiata da Brefeld ; molto probabilmente però, ove questa specie fosse ripresa in esame, il suo comportamento verrebbe anche esso chiarito e lo si troverebbe analogo al tipo di germinazione fondamentale così come ad esso sono state riportate le altre specie studiate da questo A.

Un'eccezione al tipo di germinazione ora descritto è stata però segnalata abbastanza recentemente da Blizzard per ciò che riguarda *Ur. Cepulae*. Il promicelio di questo fungo dà origine a dei rami in ciascuno dei quali passa un nucleo, però essi non si fondono mai e si sviluppano dando origine ad un micelio uninucleato.

L'eccezionale manifestarsi di infezioni di *Urocystis tritici* nel 1933 in Italia nelle colture di grano, avendo su-

(1) Durante la compilazione della presente relazione mi è giunto a conoscenza il lavoro di Stakman E. C., Cassell R. C., Moore M. B. (*The cytology of Urocystis occulta*; Phytopat.; 24, 874-889, 1934). I risultati esposti da questi AA. sulla germinazione di *Ur. occulta* e sul suo comportamento citologico concordano con quelli di Kniep su *Ur. Anemones* e con quelli ottenuti da me nell'attuale lavoro.

scitato un certo interesse attorno a questo fungo, finora poco noto in Italia a causa dei lievi e saltuari danni da esso arrecati, mi ha condotto a studiarne la biologia. Ho potuto così constatare come fosse possibile trovare nella letteratura solo dati non conclusivi sulla citologia dei primi stadi del suo ciclo di sviluppo, giacchè le ricerche effettuate da Noble lasciano ancora molti punti da chiarire; ciò mi ha indotto ad intraprendere uno studio accurato sui fenomeni citologici che accompagnano la germinazione delle clamidospore.

Come quelle di molte specie appartenenti alle Ustilaginee, anche le clamidospore dell'*Ur. tritici* non germinano subito, come invece succede per quelle di altri generi di *Urocystis*, ed hanno bisogno di un periodo di riposo: nelle mie ricerche mi è accaduto che spore raccolte su piante di grano infette, portate in laboratorio nel mese di maggio ed ivi mantenute a temperatura ambiente, hanno iniziato a germinare solo in settembre.

Inoltre mentre le clamidospore di *Ur. occulta*, per es., germinano in buona percentuale se poste semplicemente in acqua distillata, quelle di *Ur. tritici* danno pochissime germinazioni e solo dopo circa una diecina di giorni, se vengono seminate in questo mezzo.

Attenendomi ai risultati conseguiti da Noble, per ottenere una buona percentuale di germinazioni e in tempo relativamente breve, ho seguìto il metodo seguente: le clamidospore venivano tenute per quattro giorni in acqua distillata e poi trasportate in un decotto di foglie di grano o in acqua nella quale avevo spappolato dei pezzetti di giovani foglie di grano. Applicando questo sistema ottenevo dopo circa dieci ore già le prime germinazioni e dopo circa 24 ore veniva raggiunto il massimo che oscillava intorno a circa il 70% delle spore seminate.

Molta pazienza ha richiesto il trovare una tecnica di fissaggio che permettesse poi tutti i passaggi necessari per le diverse colorazioni; alla fine il sistema seguìto è stato il seguente: le clamidospore dopo aver soggiornato

per il tempo stabilito in acqua distillata venivano trasportate mediante l'ansa di platino su di un vetrino porta-oggetti ove stava il decotto di foglie di grano; i vetrini venivano poi posti in camera umida e lasciati fino a che lo sviluppo delle germinazioni avesse raggiunto lo stadio desiderato.

A questo punto si iniziava la fase delicata delle manipolazioni: con striscioline di carta bibula veniva assorbito il liquido presente sul porta-oggetti facendo in modo di non asportare spore e contemporaneamente di non danneggiarle con movimenti bruschi; asciugato il vetrino il più possibile, per mezzo di una pipetta lo si ricopriva col liquido fissatore che lasciavo agire per tempi variabili da 10 minuti a due ore, secondo i casi.

I liquidi fissatori impiegati sono stati: la soluzione di Flemming debole, Juel II, Merkel e Gilson.

Per quanto il liquido di Flemming desse in linea generale dei risultati migliori, pure ho ritenuto meglio sostituirlo con uno degli altri perchè la presenza dell'acido osmico determinava la formazione di numerose granulazioni scure nell'interno del citoplasma, dovute con molta probabilità a gocciole di grasso, che, potendosi confondere con alcune formazioni nucleari o nucleolari, potevano facilmente indurre in errore nella loro interpretazione. Terminato il fissaggio, si asportava il fissatore con il sistema delle striscioline di carta bibula; il lavaggio veniva eseguito ponendo con un contagoccie per tre volte e togliendola successivamente con carta bibula dell'acqua distillata; dopo aver tolto l'acqua l'ultima volta, era necessario fare in modo che il vetrino, pur senza essiccarsi completamente, rimanesse il più possibile asciutto. Fatto ciò, con gran delicatezza ponevo in etere etilico il portaoggetti verticalmente, in modo che il poco d'acqua rimasto vi si raccogliesse in basso e fosse poi possibile toglierlo. Dall'etere il vetrino passava in una soluzione al 2‰ di collodio in etere e alcool; dopo una breve permanenza lo estraevo e lo facevo asciugare

un istante all'aria, poi lo passavo in alcool ed iniziavo in seguito i vari passaggi per le colorazioni.

Il bagno in collodio forma sulle spore un leggerissimo velo che impedisce loro di staccarsi e rende possibile ogni ulteriore manipolazione senza per nulla alterare la trasparenza del preparato.

Le colorazioni impiegate sono state: ematossilina ferrica o Delafield con safranina oppure safranina e violetto di genziana o anche la colorazione tripla con safranina, violetto di genziana e verde luce; a titolo di prova ho anche impiegato l'arancio *G*, l'eritrosina e la fuxina diamante, ma senza ottenerne buoni risultati.

Le montature furono fatte con balsamo del Canadà e i vetrini prima vennero trattati indifferentemente con olio di garofano o con xilolo. La colorazione più usata è stata quella con safranina e violetto di genziana perchè oltre a darmi i migliori risultati è quella che richiede minor impiego di tempo.

I glomeruli di *Ur. tritici* hanno uno o più punti di germinazione a seconda del numero delle clamidospore fertili che entrano in attività: il processo si inizia con la comparsa di un grosso promicelio che può allungarsi in vario modo ed ho potuto constatare che le sue dimensioni sono in rapporto con la concentrazione in sostanze nutritive del liquido in cui avviene la germinazione. Generalmente il promicelio è formato da una sola cellula e solo nei casi in cui l'allungamento supera di molto quello medio si ha la formazione di setti trasversali; anche in questo caso però esso è virtualmente formato da una sola cellula in quanto la parete divisoria separa una porzione inferiore rimasta priva di citoplasma da quella superiore dove si è ammassato tutto il contenuto cellulare.

Poco dopo la comparsa del promicelio o anche dopo che esso ha raggiunto un certo sviluppo vi si osserva un nucleo in cui è visibilissimo un grosso nucleolo; questo nucleo ben presto si divide dando origine il più delle

volte a quattro nuclei forniti anch'essi di grosso nucleolo; a volte questo numero subisce variazioni e ciò è per lo più in relazione col numero degli sporidi che in seguito si formano.

Allorchè il promicelio ha raggiunto lo stadio quadrinucleato si osserva alla sua estremità la formazione di piccole escrescenze che, sviluppandosi, dànno origine agli sporidi di forma affusolata, collegati al promicelio da un sottile istmo. Essi possono essere in numero variabile che va da due ad un massimo di cinque.

Nell'80% dei casi si hanno promiceli con tre sporidi, a questi, come frequenza, seguono quelli a quattro, mentre invece i casi con due o cinque sporidi sono rarissimi.

In ciascuno degli sporidi passa uno dei nuclei del promicelio che va a localizzarsi nella porzione centrale, però questo passaggio non avviene sempre allo stesso momento in quanto esso si può osservare sia quando gli sporidi hanno raggiunto il loro completo sviluppo sia quando sono ancora in formazione.

Nel caso più frequente, formazione di tre sporidi, uno dei nuclei del promicelio non migra e rimane nel promicelio stesso.

Allorquando la migrazione dei nuclei si è compiuta, si cominciano ad osservare ulteriori manifestazioni che tendono a creare le condizioni necessarie perchè possa aver luogo la coniugazione.

Il modo di attuarsi di questo processo presenta alcune variazioni che non alterano però la intima natura di esso e nell'esporre lo svolgersi dei fenomeni mi riferirò dapprima alle manifestazioni osservate nei casi più frequenti.

Poco al disopra del punto di attacco col promicelio si osserva nello sporidio la formazione di una protuberanza che va man mano allungandosi fino ad incontrare o la parete di un altro sporidio o l'apice di una protuberanza analoga prodotta da quest'altro sporidio. Nel punto di contatto le pareti si dissolvono ed i due sporidi vengono così ad essere collegati da un ponte.

nella copulazione diretta tra due sporidi è quella illustrata nella tav. XV, 2, ove il canale di unione invece di formarsi alla base degli sporidi, si è originato all'apice dei medesimi.

L'occorrenza di questo tipo di fusione non è frequente: negli stadi che precedono il contatto tra i due sporidi si osserva l'allungamento di questi ed il ripiegamento degli apici l'uno verso l'altro. Non mi è stato però possibile trovare degli stadi successivi alla copulazione in sporidi con fusione apicale. Durante il corso delle osservazioni si è inoltre trovato qualche raro caso che, oltre ad allontanarsi dalla normalità, non permetteva di dare ad esso un'interpretazione soddisfacente; il più delle volte ciò riguardava il numero ed il comportamento dei nuclei. Dato però il numero limitatissimo di queste manifestazioni, ritengo che si possa con sufficiente sicurezza pensare ad anomalie, forse in rapporto con le condizioni ambientali artificiali in cui sono avvenute le germinazioni. In uno di questi casi (tav. I, 11), per es., si nota in due sporidi la presenza di due coppie di piccoli nucleoli; nel terzo, 2 piccoli nuclei ed un corpicciolo cromatico, mentre nel promicelio si osservano due sferule cromatiche collegate da filamenti.

Quanto sopra non rientra nell'ordine normale e si può solo pensare che sia dovuto ad una anormale moltiplicazione nucleare.

Passando in rassegna i fenomeni osservati si deve concludere che *Ur. tritici* ha un comportamento che può ritenersi identico a quello descritto da Kniep per *Ur. Anemones* e da Rawitscher per *Ur. Violae*.

Anche in *Ur. tritici* si riscontra la fusione tra sporidi o tra promicelio e sporidi attraverso un canale di coniugazione e l'apparizione della dicariofase è subordinata costantemente al processo di coniugazione.

Esposti così i fenomeni che accompagnano la germinazione e la coniugazione, ritengo utile fare un breve com-

mento sul modo di comportarsi del complesso nucleare nel periodo in cui due elementi sono entrati in comunicazione tra loro, con speciale riguardo alla frammentazione che subisce il nucleolo ed alla contemporanea caratteristica colorabilità del citoplasma circostante.

Riservandomi di studiare in seguito, con tecnica adeguata allo scopo, l'intimo comportamento dei nuclei nella fase che precede e segue il processo della coniugazione, ritengo opportuno già fin d'ora far presenti alcune considerazioni che mi sono state suggerite dalle osservazioni eseguite nel corso di questo studio.

Dalle ricerche di Maire, Van Camps, Zirkle, etc. si è portati oggi ad ammettere che il nucleolo prenda una parte attiva ai fenomeni cariocinetici: in certi stadi il nucleolo subirebbe una frammentazione ed una parte di esso entrerebbe in rapporto con i filamenti cromosomici, distinguendosi però da essi per una diversa affinità ai coloranti ed osservabile così sotto forma di piccole sferule indipendenti l'una dall'altra; un'altra parte sarebbe espulsa e diffusa, sempre sotto forma di piccole sferule, nel circostante citoplasma, dove in breve verrebbe ad essere assorbita.

Al termine poi della cariocinesi, quella porzione di sostanza nucleolare, che ha avuto parte attiva nel processo, riprenderebbe la propria individualità e si ricondenserebbe in una massa unica dando così origine ai nucleoli dei nuovi nuclei.

Ne consegue che, appena ricostituitisi, i nuovi nucleoli devono essere complessivamente di volume molto minore di quello originario in quanto alla loro massa manca quella che durante il processo è stata espulsa nel citoplasma circostante.

Nel caso in esame, in base alle osservazioni da me fatte, si è indotti a formulare l'ipotesi che, allorquando ha luogo il processo di coniugazione, i nuclei dei due elementi coniuganti subiscano una divisione equazionale e che delle due metà derivate da ciascun nucleo, una

degeneri e l'altra diventi uno dei nuclei che costituiranno la dicariofase.

L'ipotesi suesposta, appoggiandosi alle conclusioni raggiunte dagli AA. già citati, farebbe ritenere che la frammentazione del nucleolo, da me costantemente osservata, sia dovuta ad un processo normale della divisione del nucleo; l'affinità per i coloranti nucleari del citoplasma è dovuta con tutta probabilità alla dispersione nel contenuto cellulare sia di sostanza nucleolare espulsa durante il processo di divisione sia di sostanza appartenente al nuovo nucleo degenerato.

La ridotta dimensione dei nuclei e nucleoli, conseguenza di una perdita di materiale nucleare e nucleolare, sarebbe anche un indizio non trascurabile per ammettere una simile ipotesi.

A. Biraghi.

SUMMARY

The A. exposes the results obtained in the study of the cytology of the first stages of development of *Urocystis tritici* Koern.

The spores germinate in a decoction of young wheat plants after having been kept previously in water for four days.

A promycelium of variable lenght is produced on which from two to five sporidia appear, the most frequent number beeing three.

The young promycelium has a single nucleus that soon divides generally giving rise to four nuclei that pass in each sporidium. When the number of the sporidia is smaller than that of the nuclei of the promycelium, the surplus remains in the promycelium.

The dikaryophase is preceeded by a coniugating process between two sporidia or between a sporidium and the promycelium.

A fusion tube is always formed and throught it a nucleus passes in one of the sporidia which begins then to elongate and a binucleate hypha is thus produced.

The sporidium from which the nucleus has migrated soon degenerates as does the promycelium.

The fact that the nuclei of the dikaryophase are much smaller than those of the uninucleated sporidia and the behaviour of the nuclei during the stage of coniugation bring the A. to suggest that both the nuclei of the fusing sporidia divide: of the two groups of daughter nuclei thus formed only one of each will take part to the dikaryophase whilst the other two degenerate.

BIBLIOGRAFIA

Anderson P., *Development and pathogenesis of the onion smut fungus.* Mass. Agr. Exp. Sta., Tech. Bull.; 4, 99-133, 1921.

Belar K., *Die cytologischen Grundlagen der Vererbung.* Handb. d. Vererbungswissensch., band I, Berlin, 1928.

Blizzard A. W., *The nuclear phenomena and life history of Urocystis Cepulae.* Bull. Torrey Bot. Club; 53, 77-117, 1926.

Brefeld O., *Untersuchungen aus dem gesamtgebiete der Mycologie.* XII *Hemibasidii,* Münster, 1895.

Dastur J. F., *Cytology of Tilletia tritici (Bjerk.) Wint.*, Ann. of Bot.; 35, 399-407, 1921.

Dodge B. O., *Nuclear phenomena associated with heterothallism and homothallism in the Ascomycete Neurospora.* Journ. Agr. Res.; 35, 289-305, 1927.

Gaümann E., *Vergleichende Morphologie der Pilze.*, Jena, 1926.

Gwynne-Vaughan, H. C. I. Fraser., *Fungi: Ascomycetes, Ustilaginales, Uredinales.* Cambridge, 1922.

Hanna W. F., *Studies in the Cytology and Physiology of Ustilago zeae and Sorosporium reilianum.* Phytopat.; 19, 415-442, 1929.

Harper R. A., *Nuclear phenomena in certain stages in the development of the Smuts.*, Trans. Wiscons. Acad. Sc., Ar., Let.; 12, 475-498, 1899.

Kniep H., *Beiträge zur Kenntnis der Hymenomyceten. III.* Zeitschr. f. Bot.; 7, 369-398, 1915.

— *Ueber Urocystis Anemones (Pers.) Wint.* Zeitschr. f. Bot.; 13, 289-311, 1921.

— *Die Sexualität der niederen Pflanzen.* Jena, 1928.

Kühn J., *Die Krankheiten der Kulturgewächse, ihre Ursachen und Verhütung.* Berlin, 1858.

Maire R., *Recherches cytologiques et taxonomiques sur les Basidiomycètes.* Bull. Soc. Mycol. de France; 18, 1-209, 1902.

— *Remarques sur la cytologie de quelques Ascomycètes.* Compt. Rend. Soc. Biol.; 56, 86, 1904.

— *La mitose hétérotypique et la signification des protochromosomes chez les Basidiomycètes.* Compt. Rend. Soc. Biol.; 58, 726, 1905.

— *La mitose hétérotypique chez les Ascomycètes.* Compt. Rend. Acc. d. Sc.; 1905.

Mc Alpine D., *The smuts of Australia, their structure, life history, treatment and classification.* Melbourne, 1910.

Meyer A., *Die biologische Bedeutung der Nukleolen.* Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.; 35, 333-338, 1917.

— *Morphologische und physiologische Analyse der Zelle der Pflanzen und Tiere.* Jena, 1920.

Noble R. J., *Studies on Urocystis tritici Koern.; the organism causing flag smut of wheat.* Phytopat.; 13, 127-139, 1923.

— *Studies on the parasitism of Urocystis tritici Koern.; the organism causing flag smut of wheat.* Journ. Agr. Res.; 27, 451-489, 1924.

— *Note on the longevity of spores of the fungus Urocystis tritici Koern.* Journ. and Proc. Roy Soc. New South Wales; 67, 403-410, 1934.

Paravicini E., *Untersuchungen über das Verhalten der Zellkern bei der Fortpflanzung der Brandpilze.* Ann. Myc.; 15, 57-96, 1917.

Prillieux E., *Quelques observations sur la formation et la germination des spores des Urocystis.* Ann. Sc. Nat. Bot.; 10, 49-61, 1880.

Rawitscher F., *Beiträge zur Kenntnis der Ustilagineen.* Zeitschr. f. Bot.; 4, 673-706, 1912.

— *Beiträge zur Kenntins der Ustilagineen.* Zeitschr. f. Bot.; 14, 273-296, 1922.

Sharp Jaretzky, *Einführung in die Zytologie.* Berlin, 1931.

Sleumer H. O., *Ueber Sexualität und Zytologie von Ustilago Zeae (Beckm.) Unger.* Zeitschr. f. Bot.; 25, 209-263, 1932.

Wilson M., *The life history and Cytology of Tuburcinia primulicola Rostrup.* Rep. Brit. Ass.; Manchester, 1915.

Wolff R., *Beitrag zur Kenntniss der Ustilagineen.* Bot. Zeitg.; 31, 657-661, 1873.

— *Krankheiten der landwitschaftlichen Nützpflanzen durch Schmarotzerpilze,* 1887.

Zirkle C., *Nucleolus in root tip mitosis in Zea Mays.* Bot. Gaz.; 86, 402-418, 1928.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE

Tavola XIV.

1. — Stadio iniziale del promicelio.

2. — Promicelio col nucleo diploide appena fuoriuscito dalla clamidospora e tendente ad iniziare il processo di divisione.

3. — Promicelio ancora uninucleato.

4. — Promicelio quadrinucleato ed inizio di formazione di due sporidi.

5. — Promicelio con tre sporidi; all'apice del promicelio sono visibili cinque nucleoli.

6. — Promicelio quadrinucleato con tre sporidi; uno dei nuclei sta migrando in uno degli sporidi.

7. — Promicelio con tre nuclei e tre sporidi.

8. — Promicelio con tre sporidi: un nucleo è rimasto nel promicelio e degli altri tre, uno è passato in ogni sporidio; uno di essi è inoltre fornito di due nucleoli.

9. — Idem.

10. — Promicelio con quattro sporidi: due nuclei sono ancora nel promicelio, uno sta passando in uno sporidio ed uno è già nello sporidio.

11. — Promicelio con tre sporidi; presenza di nucleoli piccolissimi sparsi, la cui origine e significato sono difficili ad interpretarsi.

12. — Promicelio con quattro sporidi uninucleati, un quinto nucleo in soprannumero si trova nel promicelio.

13. — Promicelio con tre sporidi uninucleati; alla base di due di essi si è iniziato lo sviluppo delle protuberanze che daranno origine al canale di coniugazione, mentre all'apice del promicelio si è iniziata una analoga formazione.

14. — Promicelio con tre sporidi; i nuclei non sono visibili, si nota soltanto la presenza di gruppi di sferule cromatiche collegate da filamenti più o meno appariscenti. I due sporidi esterni hanno iniziato alla loro base la formazione delle protuberanze che daranno origine al canale di coniugazione; è notevole in esse la diversa colorazione del citoplasma. All'apice del promicelio, sul lato destro si osserva l'abbozzo del canale di coniugazione.

15. — Promicelio con due sporidi già in comunicazione tra di loro; visibili le sferule cromatiche collegate da filamenti e l'intensa colorazione del citoplasma in un punto del canale di coniugazione. Il promicelio

ha dato origine ad un canale destinato forse ad uno sporidio di un diverso promicelio.

16. — Promicelio a quattro sporidi di cui i due esterni, più intensamente colorati, sono in procinto di entrare in coniugazione. Nel promicelio sono presenti due coppie di nucleoli in soprannumero.

17. — Promicelio a tre sporidi di cui gli esterni sono entrati in coniugazione. All'apice del promicelio è visibile una piccola zona più scura: essa è data dall'inizio del canale di coniugazione (visto in proiezione) che entrerà con tutta probabilità in rapporto con lo sporidio centrale.

18. — Promicelio a tre sporidi: il primo ha incominciato a svuotarsi all'apice ed è visibile il canale di coniugazione che lo unisce al secondo che ha già iniziato ad allungarsi. Il terzo sporidio è in coniugazione col promicelio che ha iniziato a svuotarsi alla base; in conseguenza di ciò si è avuta la formazione di una parete divisoria.

19. — Promicelio a tre sporidi: gli esterni, più intensamente colorati, sono entrati in comunicazione, mentre quello centrale entrerà con tutta probabilità in rapporto col promicelio per mezzo del canale da esso formato

Tavola XV.

1. — Promicelio con tre sporidi: due in coniugazione tra loro ed il terzo in comunicazione col promicelio.

2. — Coniugazione apicale tra due sporidi e basale tra il terzo sporidio ed il promicelio.

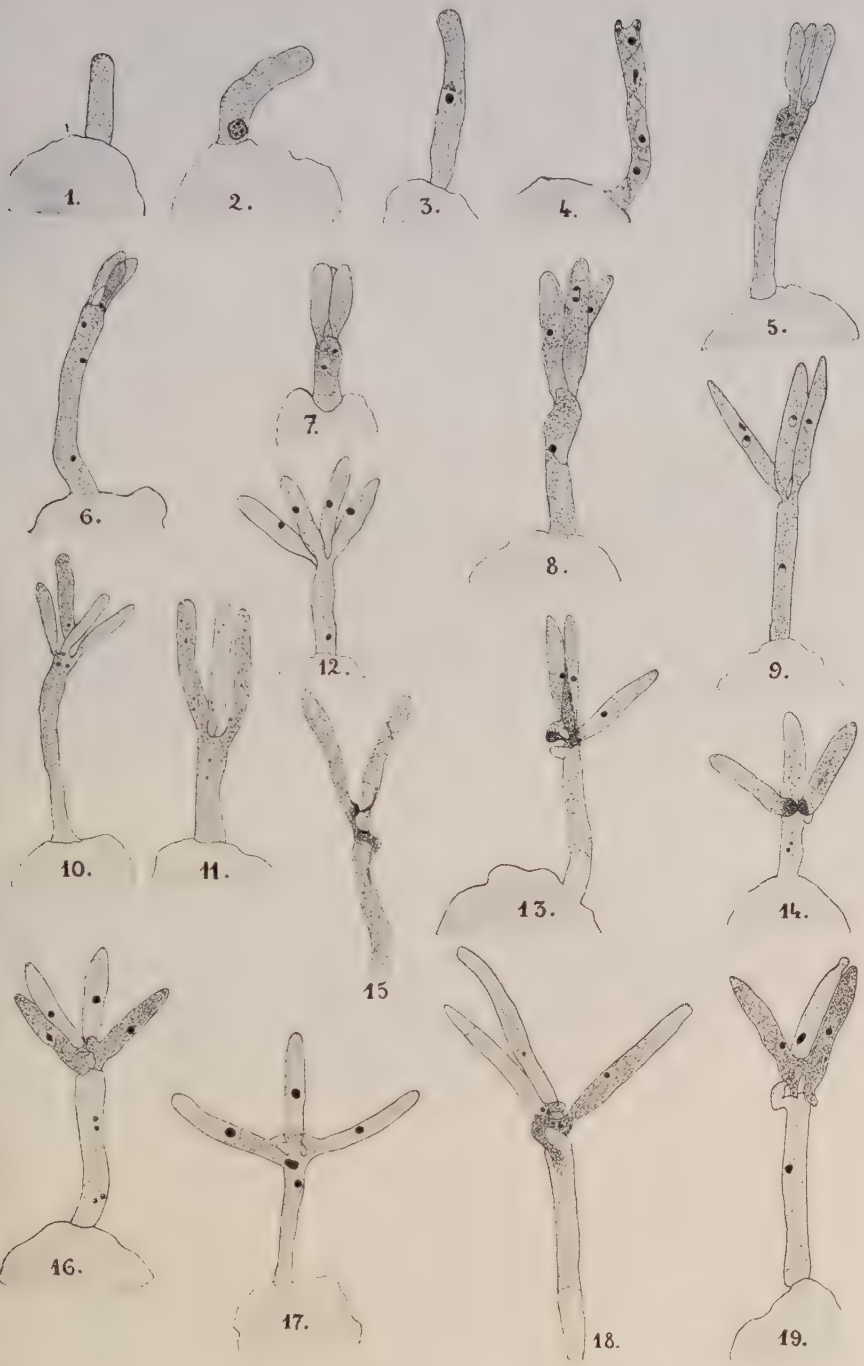
3. — Coniugazione tra sporidi: nuclei di dimensioni anormali e presenza di granulazioni cromatiche.

4. — Promicelio a tre sporidi di cui due in coniugazione tra loro. Nel promicelio e negli sporidi si notano evidenti modificazioni nucleari.

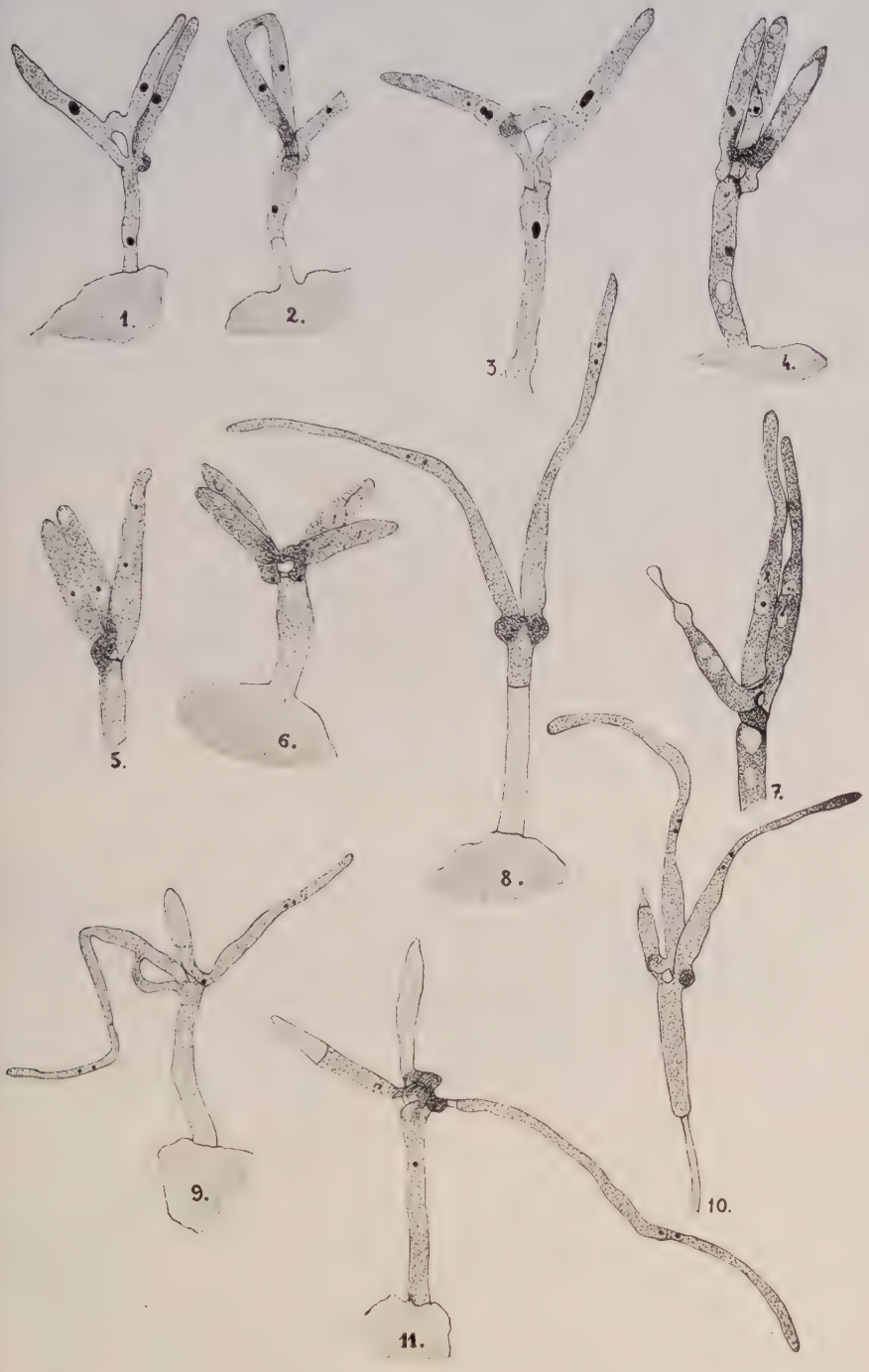
5. — Promicelio a tre sporidi di cui uno si è coniugato col promicelio; è già avvenuta la ricostituzione dei nuclei e si è iniziato l'allungamento dello sporidio.

6. — Promicelio a quattro sporidi che a due a due sono entrati in coniugazione per mezzo di canali basali. Evidentissima la frammentazione dei nucleoli e la presenza di filamenti.

7. — Promicelio a tre sporidi di cui uno è entrato in coniugazione col promicelio: uno dei nuclei è già ricostituito mentre l'altro è ancora nello stadio di frammentazione; lo sporidio ha iniziato l'allungamento. Nel promicelio, all'inizio del canale di coniugazione, è ancora visibile un frammento cromatico collegato a dei filamenti. Gli altri due sporidi sono entrati in coniugazione tra loro. Lo sporidio ricevente ha già ini-



Biraghi A. — *Ricerche citologiche sulla* Urocystis tritici *Koern.*



Biraghi A. — *Ricerche citologiche sulla* Urocystis tritici *Koern.*

ziato l'allungamento e verso la porzione apicale sono visibili i due nuclei della dicariofase, mentre più in basso si osservano altri due nuclei in attività, probabilmente essi daranno origine ad una nuova coppia in modo da creare in seguito un filamento quadrinucleato. Nel canale di coniugazione è ancora visibile un frammento cromatico a cui sono attaccati dei filamenti. L'altro sporidio ha già ceduto anche buona parte del suo citoplasma ed all'apice mostra segni di degenerazione.

8. — Sporidi in dicariofase germinati. La coniugazione è avvenuta, per entrambi, tra essi ed il promicelio e sono ancora visibili i canali di unione sotto forma di due protuberanze. Il promicelio si è quasi completamente svuotato ed ha avuto luogo la formazione di una parete divisoria.

9. — Sporidi in dicariofase germinati. Lo sporidio di destra si è coniugato con quello a lui vicino che si è già per due terzi svuotato. Lo sporidio di sinistra è entrato in coniugazione col promicelio per mezzo di un lungo canale. È interessante osservare come la base dello sporidio, al disotto del punto di contatto col canale, abbia iniziato a svuotarsi.

10. — Sporidi in dicariofase germinati: uno di essi si è fuso con lo sporidio vicino che mostra l'apice già in via di degenerazione; l'altro si è fuso col promicelio la cui porzione basale è degenerata.

11. — Uno sporidio è in dicariofase, si è notevolmente allungato ed alla base ha già formato un setto divisorio che lo separa dal promicelio e dal canale di coniugazione; lo sporidio con cui era entrato in rapporto si è svuotato. Il terzo sporidio è entrato in coniugazione col promicelio, però il processo di passaggio non ha avuto luogo e forse non sarebbe avvenuto in quanto l'apice si è già svuotato e si è avuta la formazione di un setto. È visibile la frammentazione del nucleolo.

Contributo alla lotta contro la " Tortrix pronubana „ Hb.

Il trattamento con acido cianidrico dei garofani recisi.

È nota l'importanza assunta in questi ultimi anni dalle ricerche di mezzi efficaci per combattere la *Tortrix pronubana* Hb. (Lepidoptera-Tortricidae) la cui larva vive comunemente su varie piante erbacee e cespugliose ed anche sui garofani coltivati. Sono note altresì, in proposito, le preoccupazioni che la presenza di questo microlepidottero — per sè stesso assai limitatamente dannoso — ha destato nei nostri floricultori della Riviera di Ponente, in causa delle disposizioni che la Germania ha da qualche anno emanate, ed ancora confermate, allo scopo di impedire l'importazione dei garofani così infestati (1).

I mezzi di lotta a cui si è finora ricorso, mettendo in pratica i suggerimenti dei fitopatologi ed eseguendo gli ordini impartiti dal Governo, hanno dato ottimi risultati che si potrebbero ritenere più che soddisfacenti; ma è naturale che essi, per quanto scrupolosamente applicati, non siano valsi ad impedire che insieme ai milioni di fiori recisi che annualmente le nostre colture mandano all'estero, passasse qualche larva di *Tortrix* annidata per lo più tra i rametti laterali del gambo (2).

---

(1) La distribuzione geografica della *T. pronubana* è estesa a tutto il bacino circummediterraneo di dove essa sembra originaria. È, dunque, specie prettamente meridionale, ma per la sua facile adattabilità anche a climi più freddi, e per la polifagia della larva, essa ha ormai invaso molti territori settentrionali giungendo ad es. fino in Inghilterra. È ovvio che le vie di questa diffusione possono quindi essere molteplici e, dati i costumi del bruco, anche assai numerose le piante trasportatrici di esso.

(2) I mezzi di difesa e le provvidenze adottate sono: trattamenti tempestivi con arseniato di piombo alle piantine di garofano in coltura;

Da ciò l'opportunità e la convenienza di ricorrere ad altri sistemi di lotta, diretti possibilmente ad uccidere le larve sugli stessi fiori recisi, o prima che questi vengano confezionati per la spedizione, oppure allorchè essi sono già chiusi ed imballati nelle apposite cestine. È evidente che per raggiungere lo scopo in queste condizioni, non si poteva pensare che ad insetticidi gassosi i quali potessero colpire le larve senza alterare il colore, la freschezza, il profumo dei fiori sottoposti al trattamento.

Esperienze in proposito compiute servendosi di varii gas inerti o quasi, come l'azoto e l'anidride carbonica, non diedero risultati soddisfacenti (1). Le larve di *Tortrix* sottoposte all'azione di questi gas in svariate condizioni di concentrazione, temperatura, pressione, rarefazione e durata, hanno dimostrata una resistenza notevolissima all'asfissia tanto da presentare una mortalità insignificante.

Convinti che per questa via ben poco si sarebbe potuto ottenere, si è pensato di ricorrere all'azione dell'acido cianidrico allo stato aeriforme. Come è noto questo agente è potentemente tossico e nello stesso tempo praticamente non corrosivo, per quanto esso sia dotato di proprietà leggermente caustiche sui tessuti vegetali forse in dipendenza dal fatto che esso è assai solubile in acqua e tende facilmente a contrarre forme di combinazione con le più diverse sostanze.

Le prime serie di prove, in questo senso, furono eseguite a Sanremo nella Stazione di Floricoltura « O. Raimondo » e di esse fu dato già un cenno riassuntivo (Pao-

---

estirpazione ed abbruciamento delle piante rimaste dopo il raccolto dei fiori; accurata pulitura dei fiori recisi togliendo i rametti laterali dello stelo (botture); severa visita fitosanitaria prima delle spedizioni per accertare l'assenza del parassita.

(1) G. Paoli. *Relazione sull'attività del R. Osservatorio di Fitopatologia per la Liguria* ecc., Chiavari 1931, pag. 29.

li l. c.); le ulteriori esperienze, specialmente di indole chimica, furono compiute nel R. Osservatorio Fitopatologico di Genova e nel presente lavoro riferisco in modo particolareggiato sulle une e sulle altre avvertendo che esse riguardano i seguenti tre gruppi di indagini:

1. — Stabilire le migliori condizioni di trattamento dei garofani recisi, per giungere alla sicura uccisione delle larve di *Tortrix pronubana*.

2. — Determinare la resistenza ed il comportamento dei garofani sotto l'azione dell'HCN specialmente in relazione alle condizioni necessarie e sufficienti per l'uccisione delle *Tortrix*.

3. — Studiare, infine, il meccanismo col quale l'HCN viene assorbito e in parte trattenuto dai garofani sottoposti alla sua azione.

***

1. — Le esperienze preliminari furono eseguite per saggiare la resistenza delle larve (ed anche delle ninfe e degli adulti) di *pronubana* a dosi diverse di HCN variando altresì la durata dell'azione.

Che l'acido cianidrico dovesse uccidere i bruchi di *Tortrix*, non sembrava dubbio quantunque si sapesse che taluni insetti, sia allo stato larvale sia anche allo stato adulto, offrono una resistenza assai notevole a dosi relativamente alte di questo veleno (1). Di più, è noto che le stesse larve di *pronubana* resistono bene all'effetto di sostanze volatili irritantissime e tossiche come ad es. i vapori di bromo (cfr. Paoli l. c.).

Comunque, ricerche eseguite in proposito ci hanno dimostrato che le larve di *pronubana* introdotte in un'at-

(1) U. Rocci, *Sulla resistenza degli Zigenini all'acido cianidrico.* Zeitschrift für All. Physiologie, 1914.

mosfera che contenga gr. 10 di HCN per mc. muoiono dopo circa 25'; con dosi minori di veleno, il tempo necessario per produrre la morte è, naturalmente, maggiore: così con gr. 5 di HCN per mc. la morte avviene dopo circa 1 ora. Con dosi ancora inferiori, le larve non muoiono nemmeno dopo tre ore di permanenza, il che toglie ogni valore pratico — dato lo scopo da conseguire — alle prove fatte con piccole quantità di veleno, come dimostreranno meglio le esperienze compiute con vuoto parziale che più avanti saranno riferite.

Le ninfe di *pronubana* sono assai più resistenti delle larve. Numerose esperienze comparative in proposito, e che riassumo per brevità, hanno dimostrato che mentre le larve adulte poste in un ambiente con determinata quantità di HCN muoiono in 18' (media di 10 prove), le ninfe messe nelle stesse condizioni hanno bisogno di permanervi non meno di 60' per essere uccise.

Non si riscontrano differenze sensibili tra la resistenza delle ninfe femminili (più grosse) e quella delle ninfe maschili.

Gli adulti (sia maschi che femmine) presentano invece una debolissima resistenza all'azione del veleno. Posti nelle stesse condizioni in cui, nelle esperienze precedenti, venivano messe le larve e le ninfe, gli adulti soccombono in 2' (media di 10 prove).

Analogamente a quanto ho constatato in adulti di altri lepidotteri (l. c. pag. 49) anche nella *pronubana* si osserva che con percentuali maggiori o minori di veleno, i tempi di resistenza variano approssimativamente in proporzione inversa per cui i corrispondenti rapporti restano sensibilmente costanti.

Se quindi facciamo eguale ad 1 il tempo di resistenza dell'adulto di *pronubana*, quelli, rispettivamente, della larva e della crisalide diventano 9 e 30. Perciò, in generale ed entro certi limiti di concentrazione dell'HCN potremo concludere che la resistenza della *pronubana* nei suoi tre stadi di adulto, larva, ninfa, è espressa dalla

seguente relazione numerica: 1, 9, 30, la quale indica evidentemente la *resistenza specifica* di questa specie (1).

I fenomeni che accompagnano l'intossicazione per HCN nelle larve di *pronubana* sono simili a quelli che si osservano in altri insetti. Dapprima si nota un periodo di eccitamento più o meno lungo a seconda delle quantità rispettivamente minori o maggiori di HCN presente; durante questo periodo la larva si mostra inquieta, fa dei movimenti disordinati, solleva la parte anteriore del corpo, cammina rapidamente, qualche volta si avvolge a spira e si distende poi a scatti bruschi e frequenti come quando viene toccata od irritata. Questa fase dell'intossicazione in alcuni casi è brevissima e non sempre è caratterizzata da tutti questi sintomi che si notano invece quasi sempre negli individui più grossi e robusti. Interviene poi, più o meno lentamente, un periodo di paralisi durante il quale la larva appare completamente immobile, non reagisce agli stimoli, rovesciata sul dorso non si risolleva e sembra morta. Nondimeno, esaminata con opportuno ingrandimento, si scorge che essa fa ancora dei lievissimi movimenti dei palpi e delle zampe toraciche mentre il corpo, specialmente negli ultimi somiti, è percorso da fremiti e da contrazioni. Se in questo stadio che dura per parecchi minuti, si insiste nell'azione del veleno, succede la morte, ma se invece si riporta la larva all'aria libera o meglio ancora in atmosfera di ossigeno, essa è capace di riprendersi e quando l'intossicazione non sia stata troppo profonda o troppo prolungata, la larva può ritornare più o meno rapidamente allo stato normale.

Questa possibilità del bruco di *pronubana* (2) di re-

(1) Esperienze di confronto fatte con altri microlepidotteri, han dato numeri diversi. Ad es. per *Hyponomeuta padellus* L. si ebbe nelle stesse condizioni: 1, 3, 18.

(2) Molti insetti sottoposti all'azione dell'HCN (ed anche di altri tossici paralizzanti) presentano la capacità di ritornare, per così dire, in

stare, dopo cessata l'azione del gas, per un tempo relativamente lungo in uno stato di apparente immobilità che simula la morte, deve essere tenuta ben presente nei trattamenti dei garofani, poichè può indurre in errore sull'efficacia dell'operazione eseguita.

Qualche osservazione in questo senso fu compiuta su larve della stessa *T. pronubana* (peso medio gr. 0,05) di *Cy. splendana* Hb. (gr. 0,08), di *Hy. padellus* L. (gr. 0,02) ed anche di *Balaninus elephas* Gyl. (gr. 0,08).

Ho constatato che mentre le prime non sono più capaci di riprendersi dopo circa 14' di permanenza in aria contenente gr. 5 di HCN per mc., le larve di *splendana* poste nello stesso ambiente tossico non si riprendono se si oltrepassano i 20' di azione, quelle di *padellus* muoiono dopo 7' e che infine le larve del Balanino delle castagne sono capaci di ritornare alle condizioni normali perfino dopo 40' di esposizione nella stessa atmosfera. Ho poi notato che i tempi necessari per raggiungere l'immobilità (non la morte) sono pure assai diversi per le larve delle quattro specie considerate e cioè di 10' ; 15' ; 4' ; 25' rispettivamente.

Stabilito che con l'acido cianidrico è abbastanza facile uccidere le larve di *pronubana* allorchè esse vengono poste, senza riparo, nell'atmosfera avvelenata, restava da vedere il loro comportamento quando esse si sottopongono all'azione del gas nel loro ambiente naturale ossia quando si trovano annidate e nascoste tra le foglie del gambo dei garofani o nell'interno del fiore.

Evidentemente la capacità di penetrazione dell'HCN gassoso, pur essendo grande, non è però illimitata ed è sopratutto in relazione con la sua velocità di diffusione;

---

vita dopo un periodo più o meno lungo di morte apparente. Anzi è questo un fatto generale che occorrerebbe meglio chiarire con ricerche comparative data anche l'importanza pratica che esse potrebbero avere in relazione alle fumigazioni insetticide. (Cfr. U. Rocci, l. c., pagg. 51-56).

per cui il fattore « tempo » (durata di azione) viene in queste condizioni ad assumere una notevole importanza. D'altra parte è da tenere presente che solo una frazione della quantità totale dell'HCN impiegato, può venire a contatto con le larve riparate, in quanto una certa percentuale di esso viene — come vedremo in seguito — assorbita e fissata dai fiori presenti al trattamento. La necessità quindi di tenere in considerazione anche il fattore « concentrazione del gas ». È infine da ricordare che i garofani recisi non offrono una resistenza indefinita nè alle forti dosi di HCN nè a una lunga durata di azione del tossico; per cui a questi fattori si impongono limiti che non si possono varcare senza rischiare di compromettere l'integrità dei fiori.

La ricerca dell'*optimum* di condizioni per raggiungere lo scopo prefisso, consisteva adunque nel conciliare questi elementi antitetici, ossia determinare la quantità minima di veleno necessaria e sufficiente per uccidere, nel più breve tempo, le larve di *pronubana* senza alterare i garofani trattati.

Nelle ordinarie operazioni di disinfestazione, non appare possibile raggiungere le condizioni richieste per la risoluzione del problema. Se noi infatti sottoponiamo all'azione dell'HCN gassoso i garofani recisi posti alla pressione normale in un ambiente a chiusura quasi ermetica, constatiamo che la morte di *tutte* le larve presenti, si ottiene soltanto o con forti dosi di HCN (fino a gr. 30 per mc. durante 1 ora) oppure con quantità minori di veleno ma con un tempo lunghissimo di durata d'azione (gr. 10 per mc. durante 5 ore). Queste cifre devono essere ancora aumentate se i garofani si trovano involti nella carta da imballaggio e confezionati per la spedizione. In ambedue i casi i fiori presentano, dopo estratti ed aerati, evidenti traccie di ustionatura, si mostrano profondamente alterati nel profumo e rapidamente avvizziscono.

Questo sistema che, specialmente se applicato in grande, sarebbe indubbiamente il più spiccio ed il più economico, non può dunque essere preso in considerazione al fine che si vuole raggiungere.

Per eliminare l'inconveniente più grave dell'operazione, e che più facilmente può verificarsi, ossia il deperimento dei fiori per l'azione troppo lenta e quindi troppo prolungata dei vapori tossici, si è pensato di aumentare la velocità di diffusione di questi e favorire la loro penetrazione trattando i garofani in atmosfera rarefatta.

L'apparecchio di cui mi sono servito (1) si compone delle seguenti parti: *a*) di un generatore di gas; *b*) di un autoclave; *c*) di una pompa per la rarefazione.

Il generatore consiste in un palloncino di vetro robustissimo, a fondo emisferico, con tappo a due fori attraversati, l'uno da un imbuto cilindrico a rubinetto, l'altro da un tubo di efflusso piegato a squadra e chiuso da una morsetta (fig. 1 *a*).

In fondo al palloncino si pone il cianuro di sodio e nell'imbuto la miscela di acqua ed acido solforico (2).

L'autoclave è di rame con coperchio di bronzo che porta: un vacuometro (*b*); un termometro (*c*); un tubo di immissione del gas (*d*); un tubo per la rarefazione e raccordato alla pompa (*e*); un tubo per l'aerazione dell'interno dell'autoclave (*f*) al quale si può raccordare un apparecchio a bolle di assorbimento (azionato da un

(1) Nelle esperienze per la disinfestazione delle castagne con HCN il Prof. Petri si è appunto giovato del vuoto parziale servendosi di un grande apparecchio appositamente costruito e del quale quello da me usato e qui descritto ripete, in piccolo e con alcune modificazioni accessorie, le caratteristiche fondamentali.

(Cfr. L. Petri, *Esperienze sopra alcuni mezzi di disinfezione delle castagne destinate all'esportazione*. Boll. Staz. Patol. Veg. 1927, n. 4).

(2) Le dosi usate sono le seguenti:

NaCN (tit. 129-130)	p. 1
H_2O	p. 3
H_2SO_4 a 66° B.	p. 1

aspiratore a caduta d'acqua) per il prelevamento di campioni dell'aria contenuta.

L'apparecchio di rarefazione consiste in una turbopompa ad energia elettrica.

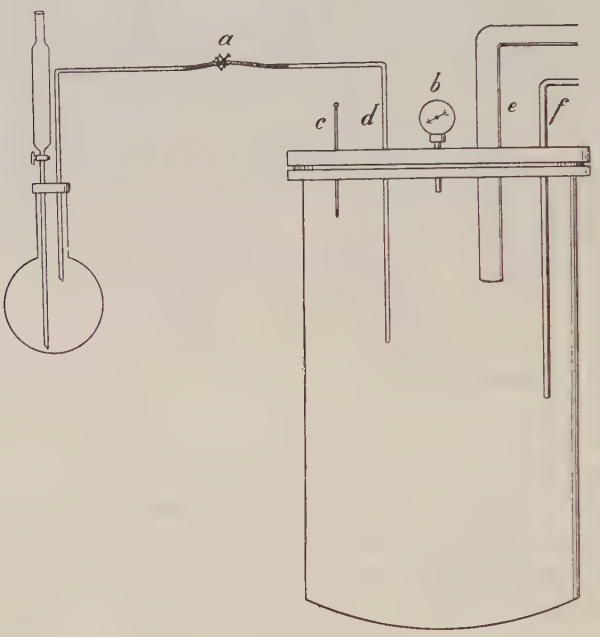


Fig. 1. — Apparecchio per il trattamento con acido cianidrico dei garofani recisi.

Il modo di operare è il seguente: posto il cianuro nel palloncino e la soluzione solforica nell'imbuto, si chiudono nell'autoclave i garofani da trattare disponendoli sciolti entro un cestello metallico sollevato dal fondo, oppure involti entro doppio o triplice strato di carta oleata (« pergamine ») a seconda delle modalità delle esperienze che s'intende di compiere. Si procede poi alla rarefazione voluta badando che la comunicazione tra palloncino ed autoclave sia chiusa. Indi si fa cadere la soluzione solforica sul cianuro provocando lo sviluppo del

gas; si chiude il rubinetto dell'imbuto e quello della pompa, e si apre la comunicazione tra il palloncino e l'autoclave aspirando così il gas nell'interno di questo. Alla fine, si lascia gorgogliare aria nel palloncino (riaprendo il rubinetto dell'imbuto) allo scopo di scacciare la maggior parte dell'HCN disciolto e trascinare le ultime tracce di gas rimaste aderenti ai tubi dell'apparecchio. Si chiude nuovamente la comunicazione col palloncino e si lascia agire il gas per il tempo stabilito. Se l'ordine delle esperienze lo richiede, prima di riaprire l'autoclave e togliere i fiori, si può estrarre con la pompa la maggior parte del gas che vi è ancora presente e, spingendo oltre la rarefazione, anche una parte di quello che è trattenuto dai fiori.

L'autoclave usato nelle esperienze qui riportate era della capacità utile di 20 litri, per cui, dato questo piccolo volume, si è creduto superfluo applicare un ventilatore nell'interno allo scopo di aiutare la diffusione del gas, poichè questa avviene abbastanza rapidamente da sè.

Le prime serie di esperienze furono compiute trattando garofani non classificati ed unicamente per stabilire in quali condizioni di rarefazione e di durata di azione si otteneva l'uccisione delle larve di *pronubana* con diverse dosi di HCN.

Grammi 1000 di garofani di varie qualità, con stelo e foglie, venivano avvolti in duplice involucro di carta « pergamine » e chiusi in un cestino simile a quelli che i floricoltori adoperano per le spedizioni. In ciascun involto furono poste, libere, 10 larve di *pronubana*; altre 10 larve erano collocate in altrettanti tubetti di vetro con tappo di ovatta e racchiusi tra i fiori nell'involto stesso.

Il cestino veniva poi disposto nell'autoclave, sorretto a circa metà dell'altezza di questo.

Le dosi di NaCN (titolo 129-130) erano crescenti da gr. 0,10 a gr. 1 per le diverse esperienze, ciascuna delle

quali venne ripetuta tre volte, protraendo l'azione del gas per 1/2 ora, per 1 ora, per 2 ore (1).

Tralascio i protocolli delle singole prove e riporto nella tabella seguente i dati ottenuti, avvertendo che in tutte le esperienze la rarefazione nell'interno dell'autoclave corrispondeva a 170 mm. di mercurio; la temperatura esterna era tra 12° e 14°, quella interna tra 12,5° e 15°. Alla fine delle operazioni e prima di levare i fiori e le larve dall'interno dell'autoclave, si faceva passare per mezzo della pompa una forte corrente di aria in modo da eliminare la maggior parte del gas. Indi si apriva l'involto, si toglievano le larve e si disponevano all'aria libera osservando se, ed in quanto tempo, esse erano capaci di riprendersi.

Nella tabella, le dosi di NaCN adoperate sono rapportate a 1 mc. e dato il volume utile dell'autoclave (20 litri) gr. 0,10 di cianuro corrispondono a gr. 5 per mc. e così via; i tempi sono espressi in minuti primi.

I garofani sottoposti al trattamento erano freschi, cioè recisi, al massimo, il giorno prima e perfettamente asciutti.

Quest' ultima circostanza è da tenere ben presente perchè lo stato di maggiore o minore umidità in cui si trovano i fiori ha notevole influenza sulla quantità di HCN che essi possono fissare e perciò sottrarre agli effetti della disinfestazione, come sarà detto più avanti.

---

(1) Le quantità di HCN corrispondenti alle diverse dosi di NaCN impiegate ed effettivamente presenti nell'autoclave durante le operazioni vennero determinate con apposite ricerche che sono riportate nella III.ª Parte del presente lavoro.

Tabella I.

Na CN per mc.	Tempo di azione	Osservazioni sulle larve tolte dall'apparecchio
gr. 5	30'	*tutte vive;* quasi normali
	60'	*vive;* qualcuna immobile ma si riprende dopo pochi minuti
	120'	*vive;* tutte immobili ma tutte ritornano normali dopo circa 30'
gr. 15	30'	*vive;* come sopra
	60'	*alcune morte;* come sopra ma solo il 60 % si riprende.
	120'	*tutte morte*
gr. 20	30'	*alcune vive;* tutte immobili, solo il 30 % si riprende.
	60'	*morte*
	120'	*morte*
gr. 25	30'	*morte*
	60'	*morte*
	120'	*morte*

Le esperienze sopra riportate hanno dunque stabilito che le condizioni necessarie per ottenere la sicura disinfestazione dei garofani dalle larve di *T. pronubana* (indipendentemente dalla resistenza dei fiori) sono: rarefazione a 170 mm.; NaCN (tit. 129-130) gr. 20 per mc.; durata 1 ora; oppure: gr. 25 di NaCN per mezz'ora.

In pratica, per essere perfettamente sicuri della riuscita dell'operazione ed anche in considerazione della maggiore resistenza delle ninfe rispetto alle larve, è consigliabile attenersi alla dose di *20 gr. di NaCN per la durata di due ore con una rarefazione non inferiore a 170 millimetri.*

Dosi minori di cianuro impiegate per un tempo maggiore (per es. gr. 5 per ore 3 e 1/2 o quattro) non apporterebbero nessun vantaggio mentre potrebbero pregiudicare l'incolumità dei fiori. D'altra parte è probabile che spingendo il vuoto ad un maggior valore si possa abbreviare a meno di due ore il tempo di azione del gas e forse anche la quantità di cianuro; esperienze in proposito hanno anzi dimostrata questa possibilità, ma mi sembra che un vuoto più alto di quello proposto, mentre non potrebbe essere raggiunto che da apparecchi assai perfetti, difficili da azionare nelle grandi operazioni, potrebbe essere causa di alterazione nei tessuti dei fiori con conseguente rapido deperimento degli stessi.

***

2. — I garofani trattati con HCN nelle condizioni suesposte, resistono bene all'azione del gas tossico.

Le esperienze furono eseguite su garofani classificati, delle qualità più comuni sul mercato e di varia resistenza. Essi sono i seguenti:

1.°) *Aline;* rosa.
2.°) *Merle;* rosso cupo.
3.°) *Cappone*; bianco (fiore piccolo).
4.°) *Fanny*; rosa misto a bianco.
5.°) *Garof. n. 6*; bianco misto a rosa.
6.°) *Rosso Viale*; rosso vivo.
7.°) *Pelepot;* bianco (fiore grande).

I garofani sono sceltissimi, verificati uno per uno in modo da scartare quelli che presentassero la minima deficienza. Si nota che i *Merle* hanno la tendenza ad un appassimento del margine esterno dei petali. In molti sono pure evidenti i segni lasciati dalle morsicature di Tisanotteri.

Il *Merle*, a parere dei coltivatori, mostra l'accartocciamento e l'imbrunimento del margine al semplice contatto brusco con un colpo di vento freddo. Così pure l'*Aline*, il *n. 6* e *Fanny* i quali risentono facilmente dell'abbassamento di temperatura.

Di ciascuna qualità vengono scelti *due* fiori, quindi *quattordici* per ogni esperimento. I fiori vengono disposti, insieme a larve di *Tortrix*, in imballaggio analogo a quello usato dagli esportatori e cioè doppio strato di carta « pergamine » e cestino.

Dopo il trattamento e l'aerazione con corrente d'aria i fiori venivano collocati in vasi con acqua che si rinnovava ogni giorno; controlli nello stesso numero e qualità venivano posti nelle identiche condizioni. Quotidianamente si procedeva all'esame di tutti i vasi, sottoponendo ogni parere alla conferma di due esperti giardinieri della Stazione di Floricoltura.

Le esperienze, cominciate il 26 gennaio, hanno dato i seguenti risultati che riassumo (1).

Esperienze 1ª; 2ª; 3ª. — *Fiori recisi 24 ore prima, asciutti; NaCN : gr. 20 per mc.; tempo : 2 ore.* — I garofani trattati si mantengono, durante circa 15 giorni, nelle stesse condizioni dei controlli senza mostrare alcuna particolare alterazione o un maggior deperimento. Soltanto in un soggetto (Pelepot) della Esp. 2 si osservano, appena tolto dall'apparecchio, segni di ustionatura al margine di alcuni petali con leggero arricciamento; nondimeno essi durano quanto gli altri e nelle stesse buone condizioni. Al 20° giorno tutti i garofani (compresi i controlli) cominciano ad avvizzire. Tutte le larve erano morte durante il trattamento.

(1) In tutte le prove la rarefazione è stata spinta al massimo consentito dall'apparecchio e cioè: 8 al vacuometro=170 mm. di Hg.

Esperienze 4ª; 5ª; 6ª. — *Fiori come sopra; NaCN: gr. 30 per mc.; tempo: 1 ora.* — I fiori si mantengono perfettamente integri e solo un Aline della Esp. 5 mostra, due giorni dopo, di aver sofferto. Al 19° giorno tutti i garofani deperiscono. Larve morte.

Esperienze 7ª; 8ª; 9ª. — *Fiori e cianuro come sopra; tempo: 2 ore.* — Hanno sofferto alcuni Aline ed un Fanny. L'avvizzimento dei garofani trattati comincia al 12° giorno; quello dei controlli si inizia al 20° giorno.

Esperienze 10ª; 11ª; 12ª. — *Fiori come sopra; NaCN: gr. 35 per mc.; tempo: 1 ora.* — Dopo 8 giorni i garofani trattati mostrano segni di deperimento; specialmente alterati sono gli Aline ed i Fanny che presentano altresì numerose traccie di ustionatura e raggrinzimento al margine dei petali.

Esperienze 13ª; 14ª. — *Fiori e rarefazione come sopra; NaCN: gr. 5 per mc.; tempo: 4 ore.* — Il deperimento dei garofani trattati comincia già all'8° giorno e progredisce rapidamente; al 10° giorno sono tutti avvizziti ed alterati anche nel profumo, senza spiccate differenze tra le diverse qualità. Larve morte.

Alcune altre esperienze sono state compiute per saggiare il limite di resistenza dei garofani e constatare cioè il loro comportamento sotto l'azione assai prolungata di forti dosi di HCN.

Esperienze 15ª; 16ª. — *Fiori come nelle esperienze precedenti; NaCN: gr. 60 per mc.; tempo: 4 ore.* — Appena estratti dall'apparecchio, i garofani non manifestavano alcun segno di alterazione all'infuori delle solite ustionature assai numerose ed evidenti. Però già dopo 8 ore dell'aerazione gli Aline cominciavano ad avvizzire seguiti ben presto da tutti gli altri; il profumo era scomparso ed il giorno dopo i fiori erano appassiti e raggrinziti.

Che le condizioni di minore o maggiore umidità in cui si trovano i garofani da trattare, abbia grande influenza sull'andamento e sui risultati dell'operazione, è già stato accennato. Le esperienze seguenti lo dimostrano chiaramente.

Esperienze 17ª; 18ª. — I fiori recisi di fresco, venivano irrorati uniformemente con acqua mediante uno spruzzatore e quindi posti nell'autoclave nelle solite condizioni insieme con 10 larve di *pronubana; NaCN: gr. 20; tempo: 2 ore.*

Tolti dall'apparecchio ed aerati, tutti i garofani, senza distinzione di qualità, appaiono fortemente alterati. Il profumo è quasi scomparso, i petali sono raggrinziti ed in parte flaccidi con segni di ustionature. Posti in vaso con acqua si riprendono un poco ma l'avvizzimento già dopo 4 ore è evidente. Il giorno dopo sono appassiti.

Delle 10 larve collocate nell'interno del cestino, due sole sono morte; le altre dopo un breve periodo di immobilità, si riprendono e ritornano allo stato normale.

Le esperienze sopraripportate ed altre compiute in condizioni lievemente diverse, possono ritenersi conclusive.

Complessivamente tutti i tipi di garofano resistono bene all'azione del gas. Non si nota, alle dosi medie sufficienti per uccidere nelle condizioni volute le larve di *Tortrix,* un deperimento tale in confronto dei controlli, da rendere dubbia o impossibile la commerciabilità dei garofani trattati. Questa resistenza dura *completa* per una *diecina* di giorni, e *parziale* per una quindicina di giorni. In altri termini, i garofani trattati cominciano a dar segni indubbi di appassimento in confronto dei controlli solamente dopo 15 giorni dal giorno in cui furono recisi e trattati. Da notare che i controlli durano, e non sempre, appena qualche giorno di più e parecchi di essi mostrano, per cause ignote, fin dai primi giorni

un parziale appassimento ai bordi che non si riscontra sui garofani trattati.

Se dunque l'HCN ha un'azione dannosa sui garofani, essa è assolutamente minima e tale da non compromettere il loro valore nei limiti di tempo della commerciabilità.

Nondimeno si sono riscontrate alcune differenze nella sensibilità al gas delle varie qualità di garofani sperimentati.

Volendo prospettare una *scala della sensibilità,* si potrebbe scrivere, cominciando dal più delicato:

1. — *Aline.*
2. — *Fanny; n. 6.*
3. — *Pelepot; Cappone.*
4. — *Merle.*
5. — *Rosso Viale.*

Resistente bene il *Merle* e resistentissimo il *Rosso Viale* che dopo 10 giorni era ancora in buono stato anche negli esperimenti con forti dosi di HCN.

Condizione importante è che i fiori da sottoporsi al trattamento non siano bagnati. In caso contrario, non solo i fiori soffrono in modo profondo, rendendo quindi sconsigliabile l'operazione, ma altresì si constata che non tutte le larve muoiono.

È ancora da osservare che i garofani, i quali dopo il trattamento con HCN gassoso ne hanno assorbito e ne trattengono quantità notevoli — tanto più se essi erano bagnati — possono facilmente esalarne una parte, o durante il trasporto, oppure durante la loro permanenza, a scopo ornamentale, in ambienti chiusi o poco aerati; in un caso e nell'altro potrebbero dar luogo ad inconvenienti o pericoli non trascurabili.

Interessava perciò e conveniva, anche per ragioni di indole pratica, studiare meglio questo complesso fenomeno.

***

3. — Che l'HCN gassoso, così largamente applicato come ottimo mezzo disinfettante, possa essere trattenuto in quantità non sempre indifferenti da numerosissime sostanze e da svariati prodotti, era già noto, quantunque le ricerche in proposito non siano tutte concordanti. È certo ad ogni modo, che la fissazione del veleno da parte delle cose sottoposte alla sua azione può avvenire soltanto per le seguenti cause o condizioni:

1.°) Per semplice aderenza fisica; 2.°) Per dissoluzione nei liquidi e specialmente nell'acqua che è sempre presente; 3.°) Per combinazione chimica con i costituenti i corpi trattati.

È evidente che la possibilità di liberare dall'HCN gli oggetti che lo trattengono, dipende sopratutto dalla forma con cui esso è stato fissato. Mentre infatti la semplice aerazione o ventilazione o meglio ancora l'estrazione a mezzo del vuoto, sono sufficienti, quasi sempre, a scacciare tutto il gas trattenuto per aderenza, queste operazioni non serviranno che ad eliminare una piccola parte dell'HCN passato in soluzione e per nulla saranno utili contro le combinazioni stabili che esso può aver contratte; a meno che i prodotti derivati non siano gassosi o facilmente evaporabili.

Maggiori e migliori risultati si ottengono col sottoporre ad un adeguato innalzamento di temperatura, i corpi nei quali, anche dopo aerazione prolungata, permangono piccole quantità di gas. Ma a parte il fatto che non tutte le sostanze possono subire senza danno questo trattamento, si è constatato che non sempre in tal modo si riesce a scacciare le ultime tracce di HCN (1).

---

(1) Nelle castagne cianidrificate, ad esempio, anche dopo riscaldamento per 2 ore a 30°, rimangono quantità dosabili di HCN. (Cfr. Petri l. c. pag. 408). Si è cercato altresì di neutralizzare queste minime per-

Per sapere se i garofani recisi che, come è ovvio, non consentono altri mezzi che l'aerazione o l'estrazione col vuoto, possono essere totalmente liberati dell'HCN assorbito, importava conoscere anzitutto le quantità di gas fissate nelle diverse condizioni di trattamento; poi stabilire sotto quali forme il veleno era trattenuto.

Dalla dose di NaCN riconosciuta sufficiente per la uccisione della *T. pronubana* e cioè gr. 20 per mc., si sviluppano teoricamente (per la nota reazione tra cianuro ed H_2SO_4) gr. 10,84 di HCN. In pratica però siamo ben lontani da questa cifra sia per le impurezze contenute nel cianuro che ne fanno discendere il titolo, sia per le reazioni secondarie che avvengono insieme a quella principale. È ancora da ricordare che con il generatore da me usato, una parte di HCN resta disciolta nella soluzione solforica in eccesso, per cui la quantità di gas realmente presente nell'autoclave all'inizio della esperienza (cioè quando nell'autoclave stesso non vi sono nè i fiori nè altri oggetti capaci di assorbire il gas) è assai inferiore a quella teorica.

Essa fu determinata partendo da dosi diverse di NaCN (titolo comm. 129-130) ripetendo tre analisi per ogni dose (1).

---

centuali residue, esponendo le castagne in atmosfera contenente sostanze che combinandosi con l'HCN danno luogo a prodotti innocui. Io ho provato con aldeide formica e chetoni in presenza di vapor d'acqua (per saponificare le cianidrine formatesi); con aria fortemente ozonizzata, sempre con esito negativo.

(1) Il metodo di dosaggio impiegato in queste determinazioni è il seguente: un dato volume di aria aspirata dall'interno dell'autoclave vien fatto passare attraverso le bolle di un apparecchio ad assorbimento contenente una soluzione diluita di KOH. Indi si titola il KCN formatosi, col metodo di Liebig. (Ann. t. LXXVII p. 102) adoperando una soluzione N/10 di $AgNO_3$.

Le medie sono qui riportate:

NaCN	HCN per mc.
gr. 5	gr. 0,90
» 10	» 1,80
» 15	» 3,25
» 20	» 4,50 (1)
» 35	» 7,90
» 50	» 11,10
» 100	» 22,80

Risulta adunque che l'HCN utilizzabile nelle nostre condizioni di esperienza è circa 1/5 in peso del NaCN usato. È poi da notare che la perdita relativa in HCN è tanto più sensibile quanto più piccole sono le quantità di NaCN da cui si è partiti.

Le ricerche compiute per determinare la quantità di HCN fissata dai garofani nelle diverse condizioni di esperimento ed i risultati ottenuti sono prospettati nella seguente tabella. La tecnica seguìta è quella già descritta per i precedenti trattamenti.

Il dosaggio dell'HCN trattenuto dai fiori è stato fatto distillandoli, bene sminuzzati, in acqua acidulata con acido tartarico e titolando poi il distillato, raccolto in soluzione potassica, col metodo di Liebig.

In alcuni casi, alla fine del tempo di azione del gas, venne prelevato un campione dall'aria rimasta nell'autoclave e dosato l'HCN residuo in essa contenuto.

Quasi tutte le prove sono state eseguite adoperando gr. 100 di garofani, freschi ma perfettamente asciutti; nondimeno, diverse esperienze e alcune determinazioni quantitative sono state compiute su quantità maggiori

(1) Questa cifra è un po' superiore a quella media trovata da Petri (l. c. pag. 401) e cioè di gr. 3,80 per mc. impiegando però KCN invece che NaCN.

La differenza si spiega facilmente considerando le diverse condizioni di esperienza e ricordando che gr. 20 di NaCN (p. m. 49.177) svolgono una quantità di HCN maggiore di quella che si ottiene da gr. 20 di KCN (p. m. 65.207).

di garofani (compatibili col piccolo volume dell'autoclave) ed anche con garofani irrorati con acqua. I dati avuti da questi ultimi esperimenti non compaiono nella tabella ma sono riferiti nelle conclusioni al presente gruppo di indagini.

Quando non è detto altrimenti s'intende che l'aerazione dei fiori trattati è stata effettuata semplicemente lasciandoli esposti all'aria libera.

Tabella II.

	NaCN usato	HCN presente	Tempo di azione	HCN residuo	Tempo di aerazione	HCN fissato dai fiori
A	gr. 0,40	gr. 0,090	1 ora	—	1 ora	0,010
	» »	» »	2 ore	—	»	0,018
	» »	» »	4 ore	—	»	0,030
	» »	» »	6 ore	0,036	»	0,048
	» »	» »	8 ore	0,030	»	0,052
	» »	» »	10 ore	0,028	»	0,054
B	gr. 0,30	gr. 0,065	2 ore	—	1 ora	0,016
	» 0,40	» 0,090	»	0,065	»	0,019
	» 0,70	» 0,158	»	—	»	0,021
	» 1,00	» 0,222	»	—	»	0,028
	» 2,00	» 0,456	»	—	»	0,030
C	gr. 0,40	gr. 0,090	2 ore	0,055	*nulla*	*0,032*
	» »	» »	»	—	1 ora	0,017
	» »	» »	»	—	2 ore	0,015
	» »	» »	»	—	6 ore	0,007
	» »	» »	»	—	12 ore	0,006
	» »	» »	»	—	48 ore	0,005
	» »	» »	»	—	60 ore	0,005

I dati esposti permettono di fare alcune considerazioni.

A) Nella prima serie di esperienze si sono sottoposti i garofani all'azione di una determinata dose di HCN (quella ritenuta ottima per la disinfestazione, ossia quella corrispondente a gr. 20 di NaCN per mc.) variando però la durata dell'azione stessa. L'aerazione è stata breve ed uguale in tutte le prove.

Si è constatato che le quantità di HCN trattenute dai garofani crescono con i tempi della loro permanenza nell'atmosfera cianidrica, ma che l'aumento non è proporzionale. Sembra anzi che si possa giungere ad un *limite di saturazione* dei fiori, oltre il quale essi non sono più capaci di fissare l'HCN presente per quanto si prolunghi la sua azione; questo limite si può ritenere raggiunto dopo circa 8 ore di trattamento.

B) In una seconda serie si è tenuto costante il tempo di azione e quello, molto breve, di aerazione e si sono fatte variare le quantità di HCN presente.

Si è visto che le quantità di gas fissato dai fiori aumentano esse pure, ma l'incremento non solo non è proporzionale, ma è anche assai lieve. Ciò sembra indicare che, entro certi limiti di tempo ed in determinate condizioni di volume, queste quantità non dipendono dalle dosi di cianuro impiegato. In altri termini i fiori sarebbero capaci di assorbire, in un dato tempo ed a parità di condizioni, una quantità pressochè costante di HCN.

Nel nostro caso infatti mentre con 0,70 di NaCN, gr. 100 di garofani fissano 0,021 di HCN, con gr. 2,00, cioè con una quantità quasi tripla di HCN presente, ne fissano soltanto 0,030, con una differenza in più di mmg. 9 che si può trascurare. Fra questi limiti, del resto abbastanza ampii, i garofani trattengono circa grammi 0,025 di HCN, quantità che rappresenta press'a poco 1/4000 del loro peso.

Ma questa percentuale, contrariamente a quanto potrebbe sembrare, non aumenta proporzionalmente al peso

e quindi al volume occupato dai garofani sottoposti al trattamento. Se noi infatti operiamo, *coeteris paribus*, con gr. 1000 di garofani e dopo dosiamo l'HCN che permane nei fiori dopo 2 ore di aerazione, constatiamo che la quantità massima di HCN assorbito è in media di gr. 0,145 ciò che rappresenta appena circa 1/7000 del peso dei fiori trattati. Ciò è dovuto certamente sia al fatto che quando i garofani occupano un volume troppo grande in rapporto alla capacità utile dell'apparecchio, la penetrazione del gas non è nè rapida nè profonda per cui il contatto non può essere uniforme e totale; sia anche alla diminuzione di concentrazione che l'HCN subisce in presenza di una quantità troppo grande di fiori.

Questa condizione di cose mentre parrebbe rappresentare un vantaggio per l'incolumità dei garofani cianidrificati, costituisce evidentemente un elemento negativo per la riuscita dell'operazione per la quale è indispensabile che in tutti i punti dove possono essere annidate le larve di *pronubana*, giunga quella minima quantità di gas necessaria per la loro uccisione.

In pratica si tenga dunque presente che la capacità dell'apparecchio deve essere molto superiore al volume occupato da un dato peso di garofani (1), i quali inoltre dovranno, possibilmente, essere disposti sciolti e sparpagliati. Nel caso che si volesse procedere alla disinfestazione dei fiori già confezionati in cestine, queste dovranno venire disposte in numero non eccessivo ed in modo che il gas possa circolare tra l'una e l'altra.

Particolare interesse presentano i dosaggi compiuti per determinare la quantità di HCN che i garofani *bagnati* sono capaci di assorbire. Le quantità di HCN che

(1) Petri (l. c. pag. 404) consiglia per la cianidrificazione in grande delle castagne, una capacità del cilindro almeno 15-20 volte superiore al volume delle castagne. Per i garofani sembra sufficiente una capacità decupla.

l'acqua di cui i fiori sono irrorati, sottrae all'azione utile vennero determinate con la solita tecnica e sono riportate nel seguente specchietto avvertendo che l'aerazione fu di 1 ora; il tempo di azione 2 ore; fiori gr. 100.

HCN presente			HCN assorbito
0,065	due prove	media	0,036
0,090	id.	id.	0,045
0,222	id.	id.	0,085

Basta confrontare questi risultati con quelli riferiti nella tabella II. *B*) per scorgere l'influenza che la presenza dell'acqua ha sull'andamento del fenomeno.

Non solo, infatti, le percentuali di HCN trattenuto sono molto superiori, ma altresì esse crescono in diretto rapporto con le dosi di HCN impiegato, contrariamente a quanto avveniva coi garofani in condizioni normali dove la quantità fissata diveniva, ad un certo punto, pressochè costante. Inoltre le cifre sopra riportate non si devono ritenere invariabili poichè esse dipendono, a parità delle altre condizioni, dalla maggiore o minore quantità di acqua che i fiori hanno ricevuto e conservato, quantità che non è possibile stabilire in pratica, prima del trattamento.

C) L'importanza che il tempo di aerazione — ed anche le modalità con cui questa viene effettuata — ha sulle quantità di HCN che permangono nei fiori, è dimostrata dalle osservazioni compiute in questa serie di determinazioni.

I garofani appena tolti dall'apparecchio trattengono una quantità relativamente alta di gas (nelle condizioni sperimentate gr. 0,032 ma altri dosaggi hanno dato valori superiori: gr. 0,036 ed anche 0,038) ma basta anche solo 1 ora di esposizione all'aria perchè essi ne perdano circa la metà.

In seguito il gas si libera molto più lentamente e sempre in quantità più piccola. Anche dopo 60 ore circa di aerazione permangono nei fiori piccole percentuali di HCN che non è possibile togliere neanche sottoponendoli ad attiva ventilazione. Soltanto rifacendo la rarefazione nell'autoclave e tenendovi esposti i fiori per 1 ora si riesce a liberarli di una ulteriore piccolissima percentuale di HCN.

Si può adunque concludere che la maggior parte dell'HCN che i garofani contengono dopo il trattamento, vi è trattenuto per semplice adesione; una piccola percentuale è invece più intimamente assorbita e fissata, probabilmente disciolta nell'acqua dei tessuti, e non è neppure da escludere che altre piccole quantità siano entrate in combinazione stabile con particolari sostanze contenute nei tessuti stessi.

Ben diverso è il comportamento dei fiori, allorchè essi sono bagnati. Dosaggi compiuti in condizioni variate, hanno dimostrato che le quantità di HCN che i garofani possono abbandonare nell'unità di tempo, sono grandemente inferiori a quelle liberate dai fiori asciutti e che anche dopo 60 ore di aerazione, gr. 100 ne contenevano ancora circa 1/5 della quantità assorbita.

Viene così confermato quanto si era già supposto e che cioè la maggior parte dell'HCN che si riscontra in questi fiori, non è quella che rimane aderente ad essi, come nel caso ordinario, ma bensì quella che si è disciolta nell'acqua esterna.

Anche per questa ragione è adunque assolutamente sconsigliabile di sottoporre i garofani al trattamento cianidrico allorquando essi sono in uno stato di eccessiva umidità come può accadere in condizioni naturali, dopo una pioggia o una abbondante rugiada per i fiori coltivati all'aperto.

Nelle condizioni riconosciute ottime per la disinfestazione (cfr. Tabella II, *C*; 4ª esp.) la semplice aerazione protratta per non meno di 6 ore è sufficiente a liberare

la maggior parte del gas assorbito e precisamente quella porzione che era soltanto trattenuta per aderenza sia dai fiori sia dal materiale di confezione (1).

Restava ora da vedere se le residue percentuali di HCN, così tenacemente trattenute, potessero svolgersi sia pure lentamente ed incompiutamente quando i garofani erano lasciati esposti in ambiente chiuso per un tempo più o meno lungo; e se nell'aria dell'ambiente stesso potevano accumularsene quantità tali da renderla inadatta alla respirazione.

Il che è stato fatto con numerose esperienze chimiche ed alcune prove biologiche che qui riferirò in riassunto:

Esperienza 1ª. — Grammi 100 di garofani vengono trattati con gr. 0,40 di NaCN per due ore a 170 mm. di rarefazione. Subito dopo vengono posti in vaso con acqua e ricoperti con un'ampia campana di vetro (litri 10 di capacità) a chiusura idraulica inferiore. Per mezzo di un tubo superiore vengono prelevati per aspirazione 5 litri di aria che si fa gorgogliare in apparecchio a bolle con soluzione potassica, nella quale si dosa poi l'HCN fissato.

Dopo 6 ore di permanenza dei fiori sotto la campana, l'aria aspirata conteneva gr. 0,012 di HCN il che fa circa gr. 2,40 per mc. e press'a poco 0,2066% in volume.

Questa percentuale di HCN rende certamente tossica l'aria dell'ambiente e se essa dovesse venire respirata da una persona ne causerebbe la morte (2).

---

(1) Anche l'imballaggio dei garofani (carta pergamine e cestina di canna) trattiene del gas; ma le quantità, se esso è asciutto, sono assai piccole e comunque si liberano facilmente e totalmente dopo due ore di aerazione.

(2) Secondo Hasselmann [6] la dose letale di HCN per l'uomo è di circa gr. 0,060 ossia che ad una concentrazione di gas di 1 vol.% sarebbe sufficiente respirare 5 litri di aria con circa 10 inspirazioni. Secondo altri invece (Flury e Huebner-Bioch. Z. 95-255-1919) una dose di gr. 0,040-50 per mc. potrebbe essere sopportata in permanenza senza alcun inconveniente.

I dati delle analisi sono confermati da questa semplice esperienza: un topo del peso di gr. 16 viene posto sotto la campana insieme con gr. 100 di garofani cianidrificati e non aerati. Dopo 15' il topo dà segni di malessere e trascorsi appena 25' esso mostra i sintomi di una profonda intossicazione per HCN. Riportato all'aria pura l'animale si riprende rapidamente.

Esperienza 2ª. — Grammi 100 di garofani, trattati come precedentemente è detto, vengono poi lasciati all'aria libera per 6 ore e quindi posti sotto la campana dove restano per altre 8 ore. Cinque litri di aria, prelevati dopo questo tempo, contengono solo traccie non dosabili di HCN.

La soluzione potassica dell'apparecchio di assorbimento mostra lievissima la reazione del bleu di Prussia; una cartina all'acetato di rame-benzidina (1) tenuta per 7'' nell'atmosfera sotto la campana, diventa lievemente azzurra.

Anche la prova biologica è negativa: due topi posti sotto la campana insieme ai garofani cianidrificati e poi aerati per 6 ore, non dimostrano alcun segno di malessere e dopo 24 ore continuano a vivere in condizioni perfettamente normali.

Anche dopo 12 e 24 ore l'aria della campana non contiene che traccie indosabili di HCN e se l'aerazione dei garofani è stata protratta per 8-10 ore, invece che per 6, l'aria non ne contiene affatto.

Si può dunque ritenere che i fiori, dopo una sufficiente aerazione non possono più presentare alcun pericolo, anche se tenuti in luogo chiuso, poichè le ultime quantità di gas che essi tuttavia trattengono non si liberano spontaneamente e sono rivelabili soltanto con la distillazione.

---

(1) Cfr. Pertusi e Gastaldi. *Chem. Zentr.*, 1913, II, p. 87.

Resta perciò confermato che queste residue percentuali le quali, come indicano i dati della Tabella II, sono assai piccole, debbono essere trattenute dai tessuti o in una forma di combinazione stabile dalla quale il radicale –CN è soltanto liberato con la idrolisi, oppure si trovano disciolte nell'acqua dei tessuti medesimi.

Comunque sia, è certo che nei garofani cianidrificati e che hanno subìto poi un disseccamento avanzato o una incipiente decomposizione e quindi un'alterazione più o meno profonda nella costituzione delle sostanze contenute, non è più possibile svelare la presenza di HCN. In alcune esperienze ho tenuto gr. 100 di garofani trattati, esposti all'aria in luogo asciutto per 18 giorni; il loro peso si era ridotto a gr. 20 ed essi apparivano disseccati ma non decomposti, nè ammuffiti. Sottoposti a distillazione in acqua acidulata con acido tartarico, il distillato non conteneva alcuna traccia di HCN. Altri gr. 100 tenuti in ambiente umido, alla fine dei 18 giorni avevano ridotto il peso a gr. 50 e si mostravano fortemente ammuffiti; nel distillato i saggi per l'HCN furono negativi.

***

Le ricerche e le esperienze compiute mi sembrano sufficienti per le seguenti:

CONCLUSIONI

1.° — È possibile con dosi appropriate di HCN e servendosi di un apparecchio a rarefazione, di uccidere le larve e le ninfe della *Tortrix* dei garofani.

2.° — Il vuoto nell'interno dell'autoclave va spinto il più possibile, ma una rarefazione corrispondente a 170 mm. di Hg. è sufficiente.

3.° — Le dosi di NaCN (tit. comm. 129-130) necessarie, variano da gr. 20 a gr. 25 per mc.; quantità inferiori

o superiori non sono consigliabili. La durata del trattamento dev'essere in media di 2 ore.

4.° — A queste dosi di HCN ed entro tale limite di tempo, i garofani resistono bene, ed a parte alcune lievi differenze specifiche nelle diverse qualità, tutti conservano la loro apparenza normale anche dopo 10-15 giorni dal trattamento.

5.° — Condizione importante è che i garofani da sottoporsi al trattamento non siano bagnati; in caso contrario si compromette l'esito dell'operazione sia in riguardo alla uccisione delle larve, sia all'incolumità dei fiori.

6.° — L'uccisione delle larve si raggiunge anche quando i fiori sono racchiusi in cestine nell'imballaggio voluto per la spedizione; occorre però che il vuoto non sia assolutamente inferiore a 170 mm.

7.° — I fiori trattati sia sciolti che confezionati, si possono privare quasi del tutto dell'HCN trattenuto per mezzo della semplice aerazione protratta per 6-8 ore; la ventilazione e meglio ancora la estrazione con il vuoto, facilitano e rendono più rapida l'operazione.

8.° — Le traccie residue di HCN che permangono nei garofani dopo l'aereazione e che sembrano fissate in modo stabile nei tessuti, non si svolgono anche se i fiori sono lasciati esposti lungamente all'aria.

9.° — Non è quindi da temere l'eventualità che da fiori cianidrificati e convenientemente aerati, anche se lasciati in luogo chiuso, si possano liberare quantità pericolose di HCN.

10.° — Si può ritenere che, impostato su queste basi, il trattamento con HCN gassoso, dei garofani, per distruggere la *Tortrix pronubana*, possa venire applicato, senza difficoltà, in operazioni su vasta scala.

SUMMARY.

As his contribution to the control of the *Tortrix pronubana*, which infests carnation plants, the A. has carried out numerous experiments, treating in partial vacuo, with Hydrocyanic acid gas (HCN), a number of cut carnations.

The results were satisfactory, and showed that under those conditions necessary and sufficient for the killing of the *Tortrix* (larvae and pupae), the flowers do not suffer as a result of the action of the gas, and that the former, when suitably aerated, do not present the inconvenience of exhaling dangerous quantities of Hydrocyanic acid gas, even when kept for long periods of time in closed of poorly ventilated rooms.

The method may therefore be considered as the basis for practical applications on a large scale.

Genova - R.° Osservatorio Fitopatologico.

UBALDO ROCCI.

BIBLIOGRAFIA

Ai lavori citati nel corso della presente pubblicazione, sono da aggiungere i seguenti:

1. AKIN (C. V.) a. SCHERRARD (G. C.) *Fumigation with Cyanogen Products* (Public Health Reports. Treasury Departement Vol. 43, n. 41, 1928, Washington).
2. BUTTENBERG (P.) u. WEISS (H), *Ueber die Beeinflussung von Lebensmitteln bei der Blausäure-durchgasung von Schiffen und Speichern.* (Zeit. fur Unters. der Nahrungs, u. Genussmittel sowie der Gebrauchsgegenstände. B. 48 H. 1. 1924, Berlin).
3. CHIÒ (M.) *Il meccanismo dell'azione tossica dell'acido cianidrico* (Boll. R. Accad. Medica di Genova. A. XXVIII, n. 1-2, 1913).
4. FETSCHER (R.) *Ueber die Bekampfung der Bettwanze mit Blausäure etc.* (Reichs-Gesundheitsblatt. n. 11-12, 1927).

5. Fisher (C. R.). *The life - history and habits of Tortrix pronubana* Hb. *etc.* (Ann. of Appl. Biology, Vol. XI, n. 3-4, 1924 Cambridge).

6. Hasselmann (*C. M.*). *Procédés modernes de lutte contre les insectes nuisibles et les rats.* (A. Congrès Colonial, 3ª Section-Medecine, 1924, Berlin).

7. Lutrario (A.). *La dératisation en Italie.* (Bull. Office Internat. d'Hygiène publique. T. XX, f. 7, p. 1086, Paris 1928).

8. Pantanelli (E.). *Disinfezione dei fagioli tonchiati.* (Le Stazioni Sperimentali Agrarie italiane. Vol. L, 1917, Modena).

9. Marchal (P.) et Vayssiere (P.). *Etude sur la désinfection des produits végétaux et des denrées agricoles.* (Annales des Epiphyties. A. 11, n. 3, 1925, Paris).

10. Piras (L.). *Esperienze di disinfestazione e derattizzazione per mezzo dell'acido cianidrico gassoso.* (L'igiene moderna, A. IV, n. 5, 1921, Genova).

11. Sieverts (A.) u. Hermdorf (A.), *Der Nachweis gasförmiger Blausäure in Luft.* (Zeit. fur angewandte Chemie, Jahr., 34, n. 1-4, 1921).

12. Tagliaferro (Cl.). *Sur la fumigation des navires* (Bull. Office international d'Hygiène publique. T. XX, f. 7, p. 1074, Paris 1928).

" Saltazioni „ in Heterosporium gracile

Uno dei campi più interessanti della biologia dei funghi è quello delle ricerche analitiche sulla loro costituzione genetica: lo studio delle varie forme biologiche e fisiologiche dei parassiti, le nozioni sulla sessualità e quelle sulle variazioni permanenti o no, spontanee o stimolate dei funghi in genere costituiscono dei capitoli della microbiologia che contribuiscono notevolmente alla conoscenza della genetica di questi organismi, molto più complessa e astrusa di quella delle piante superiori.

Di particolare interesse è lo studio di quelle variazioni che secondo la nomenclatura di Brierley [5] si dicono *variazioni discontinue* o *saltazioni* perchè vediamo avvenire sotto i nostri occhi, sebbene non troppo frequentemente, qualche cosa di molto simile a quello che deve avvenire in natura e che ha per conseguenza la produzione delle razze fisiologiche che sono di grande importanza sia per la scienza pura sia per la scienza applicata. Le variazioni discontinue o *saltazioni* possono essere di adattamento o no e possono interessare dei caratteri sia morfologici che fisiologici, come cambiamento o perdita di colore, presenza o meno di micelio aereo, maggiore o minore velocità di accrescimento, tendenza alla sterilità o sterilità assoluta, comparsa di proprietà fisiologiche differenti, variazioni nella patogenità ecc.

Le cause delle *saltazioni* non sono ancora ben note, tuttavia è molto probabile che parecchi casi siano dovuti a rimaneggiamenti del contenuto cromosomico dei nuclei o a disgiunzioni dei fattori somatici.

Fenomeni di *saltazione* avvengono in tutti i funghi, ma forse più frequentemente nei Deuteromiceti e presumibilmente in quelle specie che hanno una costituzione genetica complessa che in certo modo potrebbe paragonarsi a quella degli eterozigoti delle piante superiori.

Da qualche lustro molti studiosi si occupano delle *saltazioni,* la maggior parte delle quali sono state seguite nei funghi imperfetti, e già notevoli progressi sono stati fatti nella loro interpretazione. È presumibile quindi che altre ricerche sulle variazioni discontinue possano portare il loro contributo alla soluzione della questione sia confermando fatti già noti, sia mettendone in evidenza dei nuovi.

Dai primi lavori sulle saltazioni dal 1918 in poi, le ricerche su questo argomento si sono venute intensificando, specie in quest'ultimo decennio per cui oggi si conoscono, per molti funghi superiori ed imperfetti, variazioni brusche alcune costanti, altre solo temporanee perchè persistenti fino a che permangono certe particolari condizioni di ambiente, altre ancora naturalmente reversibili. Senza ripetere un lungo elenco bibliografico rimando chi può interessarsi dell'argomento al lavoro di Petri [27] che è aggiornato fino al principio del 1930. In seguito altri interessanti lavori sono comparsi, tra i quali basterà citare quelli di Barnes [1, 2, 3] su *Botrytis cinerea, Eurotium herbariorum* e *Thamnidium elegans,* di Mitra [21], Paxton [26], Greaney e Machacek [16], Shouds e Dickson [29] su *Helminthosporium,* di Matsuura [20] su *Brachisporium,* di Moreau e Moruzzi [22, 23] su *Neurospora,* di Hansen e Smith [18] su *Botrytis cinerea,* di Christensen C. [11] su *Pestalozzia,* di Dickinson [13] su *Fusarium* ed *Helminthosporium,* di Galloway [15] su *Aspergillus terreus,* di Green [17] su *Aspergillus Fischeri,* di Palmiter [25] su *Venturia inaequalis* e di Biraghi [4] su *Glocosporium olivarum.*

Alcune di queste ricerche riguardano *saltazioni* prodottesi in modo spontaneo in colture conservate in ambiente normale, ma la maggior parte descrivono saltazioni ottenute stimolando in vario modo le colture originarie.

Allo scopo di portare un modesto contributo allo studio delle variazioni improvvise, ho intrapreso già da circa due anni delle ricerche servendomi di un fungo paras-

sita molto comune: l'*Heterosporium gracile* dell'*Iris*. Lo studio fu diviso in due parti: in un primo tempo ho seguito le saltazioni spontanee che con una certa frequenza si venivano formando nelle colture; in un secondo tempo, servendomi di alcuni stipiti ottenuti nella prima serie, ho cercato di stimolare la produzione delle *saltazioni* sottoponendo le colture a condizioni differenti

Fig. 1. — Coltura di partenza
di *Heterosporium gracile*, denominata *H.*

dalle normali. L'*Heterosporium gracile* (Wallr.) Sacc. usato in questo studio fu isolato nel novembre del 1932 da foglie di *Iris* in territorio di Anagni (prov. di Frosinone) e di esso feci parecchi tubi di coltura che si presentarono tutti normali e con micelio verde-olivastro cupo (senza zonature nelle colture in scatola Petri) e abbondantissima produzione di conidi. Da una scatola Petri ottenuta con trapianto di micelio di un tubo, la quale rappresenta la coltura originaria che distinguo per comodità con la lettera *H* (vedi fig. 1), ho prelevato materiale ed ho fatti in scatole Petri diciotto isolamenti monoconi-

dici servendomi del micromanipolatore Chambers della Casa Leitz, mezzo assai più sicuro di quello delle diluizioni (metodo di Koch). Il substrato impiegato fu brodo di carote agarizzato, preparato con le maggiori cure per averlo sempre di composizione costante e della stessa reazione.

***

Saltazioni spontanee. — Delle 18 colture molte furono scartate perchè presentavano caratteri identici tra loro e con quella della scatola originaria; furono invece conservate, seguite e moltiplicate con isolamenti monoconidici, tre sole colture che mostravano un particolare interesse pel loro aspetto differente dal normale. Questi tre stipiti sono stati indicati con le lettere *A*, *B*, *C* e si presentavano: *A* inferiormente di colore bruno-olivastro a zone concentriche più chiare alternate fin dal centro della colonia, superiormente feltrose e di colore bianco-verdastro; *B* al di sotto con un'area centrale nera, poi con un alone di piccoli cerchi concentrici quasi bianchi e verdi ed infine con una zona periferica completamente bianca, mentre di sopra era feltrosa e di colore quasi bianco (vedi fig. 2). *C* era lo stipite che più si allontanava dalla normalità perchè aveva superiormente un colore bianco-roseo, solo al di sotto della piastra era riconoscibile una zonatura verde-scura. Anche dal punto di vista fisiologico questi tre stipiti offrivano differenze apprezzabili, infatti la produzione di conidi era abbondantissima in *A*, meno abbondante in *C*, scarsa in *B*. I caratteri morfologici dei conidi erano anch'essi differenti: *A* presentava conidi allungati e relativamente sottili con buona percentuale di quelli a 3 e 4 setti (dimensioni medie di 50 misurazioni μ 58,78 × 14,41, setti media di 50 conidi 2,2); *C* aveva conidi più tozzi e più corti (dimensioni medie di 50 misurazioni μ 52,74 × 16,09) e numero medio dei setti uguale a due.

Con i conidi formati dalle colture *A*, *B*, e *C* furono fatte numerose colture monoconidiche per parecchie generazioni. Come risultato di queste colture ottenni da *A* tutti discendenti abbastanza simili tra loro e al pro-

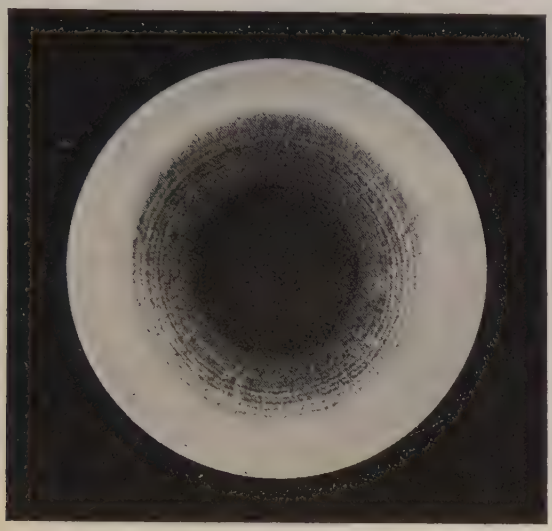


Fig. 2. — Coltura monoconidica di *Heterosporium gracile*, stipite *B*.

genitore per cui non ritenni di continuare le propagazioni oltre la terza generazione ed abbandonai lo stipite. Da *B* e *C* ebbi discendenti interessanti che produssero variazioni brusche che qui descrivo.

Stipite B. — La seconda generazione monoconidica B_2, allestita in numero di dieci scatole Petri dette tutte colture che si andavano avvicinando al tipo originario, tuttavia in una sola piastra dopo 23 o 24 giorni cominciò a manifestarsi alla periferia di colore grigiastro un piccolo settore del tutto bianco che dopo 8 giorni (cioè quando la coltura aveva 32 giorni) si era trasformato in un ampio settore bianco che continuamente si accresceva

(vedi fig. 3) (1). Il settore è stato seguito sulla piastra su cui si era formato per vari giorni, ed ho potuto constatare che esso dopo 18 giorni di vita aveva avuto, co-

Fig. 3. — Coltura monoconidica B_2, derivata da B, con settore bianco.

me spesso avviene sui settori di saltazione, uno sviluppo molto più rapido della coltura restante, per cui sporgeva di mm. 2 dal contorno della coltura, era bianco con lieve

(1) Questo settore si è formato quindi nella porzione più giovane della coltura; debbo qui anche ricordare che tutti i saltanti ottenuti con questo fungo avevano forma di settori periferici e mai si riscontrarono aree di forma irregolare.

tendenza al carnicino e presentava a circa metà del suo raggio una zona arcuata leggermente grigia. Particolare degno di nota è che mentre nel resto della colonia si erano formati conidi, nel settore saltante, ed anche nella zona più scura di esso, non se ne formarono mai.

Prelevando piccoli frammenti di micelio alla periferia del settore ho allestito altre cinque piastre che si sono mantenute tutte bianche salvo una che presentò una sola zona verde-scuro. Anche con queste colture, tralasciando quella zonata, feci propagazioni con micelio ottenendo sempre, per oltre un anno, generazioni tutte bianche con pochissime colture mostranti una tendenza a zonature di un verde così chiaro che era appena riconoscibile. Non potetti procedere alla preparazione di colture monoconidiche per mancanza assoluta di conidi.

La produzione di saltanti albini è forse una delle più frequentemente osservate ed è interessante anche perchè l'albinismo in genere si accoppia ad una caratteristica fisiologica, cioè quella della sterilità completa o parziale dei saltanti come anche si è verificato nel caso ora segnalato in *Heterosporium*. Meno frequentemente il carattere della sterilità non si associa all'albinismo e si hanno allora colture normalmente fertili. Tra i primi casi, che concordano col mio, posso citare i saltanti albini sterili ottenuti da Cristensen [9, 10] da *Helminthosporium sativum* senza alcuna stimolazione delle colture, quelli di Stevens [30] pure avuti da *H. sativum* naturalmente e quelli che Greaney e Machacek ebbero da *H. sativum* con stimolazione a mezzo di raggi ultravioletti. Anche Sellschop [28] ebbe un saltante sterile più chiaro dell'originale da un *Gloeosporium* isolato da un limone e Palmiter ottenne un albino sterile da colture di *Venturia inaequalis*. Tra i meno frequenti albini fertili vi sono: quello avuto da Greaney e Machacek con trattamento con raggi ultravioletti dallo stesso *H. sativum* su ricordato e sotto un certo punto di vista anche quelli ricordati da Biraghi [4] provenienti da una coltura grigia di *Gloeospo-*

rium olivarum e da Burger [7] per *Colletotrichum gloeosporioides*. Caldis e Coons [8] che hanno ottenuto saltanti bianchi e sterili, conservatisi tali per oltre due anni, da *Colletotrichum Lindemuthianum*, *Cladosporium fulvum*, e *Septoria Apii*, ritengono che la perdita del colore non sia una vera modificazione genetica, ma piuttosto una variazione somatica la quale quindi si potrebbe paragonare alle variazioni gemmarie delle piante superiori.

Lo stipite albino di *Heterosporium* che si è mantenuto costante nelle successive generazioni per oltre un anno, non ha dato più luogo ad altre modificazioni o a settori e si deve quindi considerare come una saltazione non reversibile, almeno nelle condizioni in cui si svolsero le mie esperienze, per cui secondo lo schema di Brierley sarebbe una variazione discontinua non reversibile del gruppo indicato sinteticamente « non adaptive unconditioned variation ».

Stipite C. — Le colture monoconidiche eseguite con conidi prelevati da *C* e tutti i discendenti da queste derivati dettero risultati quanto mai interessanti. La seconda generazione C_2, composta di sei piastre ha dato una coltura bianco-carnicina senza alcun accenno a bruno o a verde-bruno e cinque colture nelle quali si conservava l'aspetto del capostipite *C*, vale a dire una colorazione generale più chiara della coltura originaria *H* dovuta ad un maggiore sviluppo delle zone bianche, ma con una caratteristica nuova, quella cioè di avere le zone scure di colore bruno quasi puro con un solo lieve accenno al verde.

Lo stipite C_2 bianco carnicino fu propagato con micelio e a mezzo di pochi isolamenti monoconidici perchè la produzione di conidi fu estremamente scarsa; la generazione C_3 conservò per circa la metà il colore bianco, perdendo sia la sfumatura carnicina sia la facoltà già ridotta di produrre conidi (vedi fig. 4): ho ottenuto così

attraverso due generazioni uno stipite perfettamente uguale a quello manifestatosi con saltazioni in una capsula di B_2, e mantenutosi sempre uguale a sè stesso e a quello del settore B_2 durante i successivi trapianti che

Fig. 4. — Coltura monoconidica C_3, derivata da C_2 albina e sterile.

ne ho fatti per circa un anno. L'altra metà della generazione C_3 indicata con C_{3a} che già presentava evidenti traccie di zone bruno-verdastre, ridusse nella generazione C_{4a} le caratteristiche che la avvicinavano all'albino diminuendo l'ampiezza delle zone bianche e intensificando il colore bruno-verde delle altre zone, per cui nella successiva generazione C_{5a} si ebbero colture che non ricordavano neppure lontanamente C_2 e che assomigliavano in massima alla coltura originaria *II* con tendenza alcune

verso A altre verso B, e ciò per tutte le propagazioni che durarono otto mesi. Con la generazione C_{5a} si chiude quindi, col ritorno al punto di partenza, il ciclo della modificazione C_{3a} che di conseguenza va considerata come un fenotipo, mentre un vero genotipo è il C_2 albino.

Fig. 5. — Coltura C_{3a}, ottenuta da C per trapianto di micelio, mostrante due settori uno scuro e l'altro chiaro.

Delle altre cinque colture presentatesi in C_2, che non mostrarono tra loro altre differenze che nella disposizione e nelle dimensioni delle zonature, ho fatto tre gruppi: C_{2a} con area centrale della colonia bianca, C_{2b} con area centrale molto scura, quasi nera, C_{2c} con area centrale più chiara e zone meno nette che nelle precedenti. Dopo circa un mese di vita in una delle piastre di C_{2a} si sono formati due settori di saltazione di cui uno (v. fig. 5) intensamente scuro quasi nero alla base con zone alter-

nate sempre più chiare alla periferia, ed un altro molto più chiaro del resto della coltura diviso a metà da un piccolo settore non variato. Da C_{2b} una piastra formò (vedi fig. 6) un complesso settore che era leggermente più scuro ma si differenziava per la diversa velocità di accre-

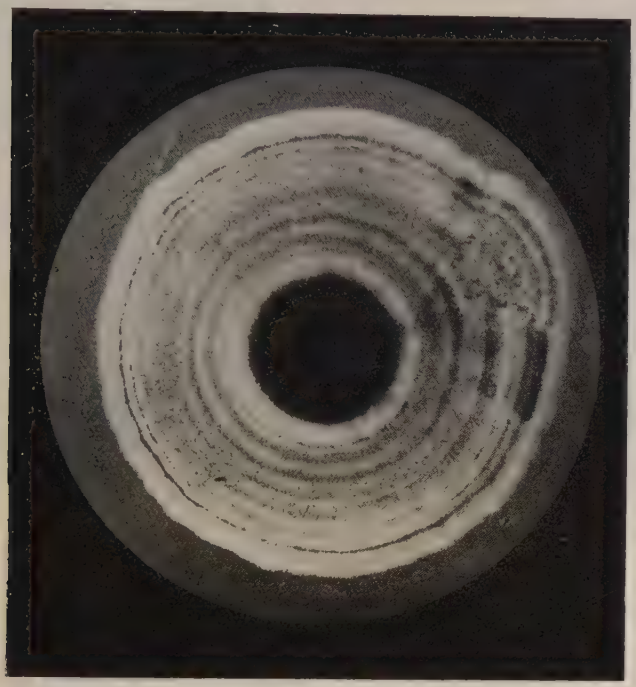


Fig. 6. — Coltura C_{2b}, ottenuta per via monoconidica da C, mostrante un complesso settore.

scimento per cui già all'epoca in cui fu fotografato sporgeva molto dal resto della coltura e molto più avanzò in epoca posteriore. Nessun cambiamento e nessun settore si ebbe nelle generazioni successive dello stipite C_{2c} che fu perciò abbandonato.

Dai due settori saltanti di C_{2a}: quello scuro e quello chiaro, con prelevamenti di piccole porzioni di micelio, ho ottenuto due nuovi stipiti che ho chiamato: D_a quello

proveniente dal settore scuro, ed E_c quello proveniente dal settore chiaro. La propagazione di D_a riprodusse una coltura del tutto simile al settore e cioè intensamente scura al centro con zone sempre più chiare verso la periferia (vedi fig. 7) che aveva rassomiglianza con lo stipite

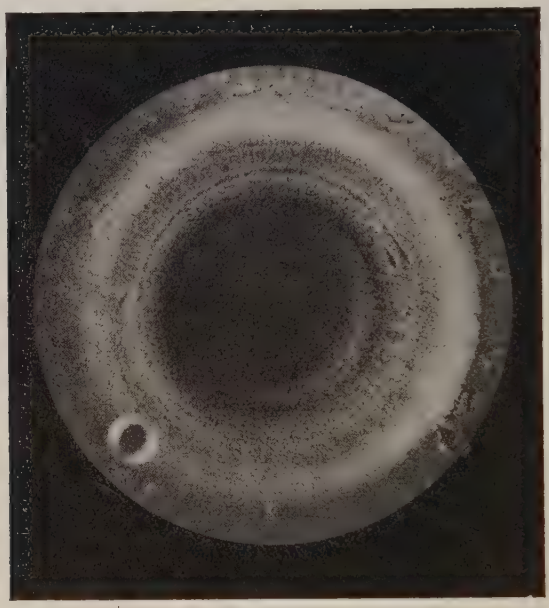


Fig. 7. — Coltura D_a, derivata dal settore scuro di C_{2a}.
(La piccola colonia in basso a sinistra è un inquinamento).

originario *H* e si poteva considerare come una via di mezzo tra *H* e *B*. È lecito quindi interpretare la saltazione scura di C_{2a} come un ritorno alla forma originaria; ed infatti colture monoconidiche ($D_{a'}$ e $D_{a''}$) eseguite coi conidi che abbondantemente si produssero in D_a, dettero colture non distinguibili da *H*. Ben diverso comportamento ebbe invece lo stipite E_c derivato dal settore chiaro di C_{2a}: esso (vedi fig. 8) si mantenne sempre nelle successive generazioni, eseguite con trapianto di micelio, identico al settore e dette colture che considero come una

mutazione ben definita che non mi è risultata reversibile. Come intensità di colorazione esso è intermedio tra lo stipite albino ottenuto da B_2 e da C_2 e quello bruno-verdastro rappresentato da C_{2a}, ed è caratterizzato da zone

Fig. 8. — Coltura E_c, derivata dal settore chiaro di C_{2a}.

alterne bianche e bianco-grigie, mentre al centro è olivastro più marcato.

Dalla coltura C_{2b} in cui si possono scorgere (vedi figura 6) tre settori contigui di cui i due estremi più scuri e meno sporgenti ed il centrale più chiaro, ma più veloce nel suo accrescimento, fu utilizzato micelio prelevato

solo da quest'ultima porzione. La coltura derivata fu indicata con F e fu riscontrata ripetere con molta fedeltà lo stipite C da cui per coltura monoconidica era derivato C_{2b}; la saltazione verificatasi in C_{2b} quindi deve essere

Fig. 9. — Coltura F_3 derivata dal settore di C_{2b} e ripetente lo stipite C.

considerata come una reversione ed un ritorno allo stipite C. Colture identiche a F si ebbero nelle generazioni F_2 e F_3 (v. fig. 9) ottenute per trapianto e solo poche per via monoconidiale.

I risultati ottenuti nelle ricerche su descritte si possono riepilogare nel seguente quadro genealogico da cui

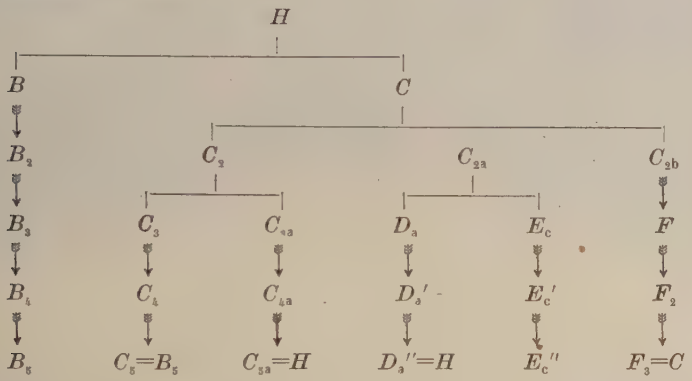
risulta che nelle numerose generazioni eseguite (già ridotte a poche per schematizzare) si sono avuti:

1.°) un saltante albino (B_2 e C_3) con due diversi procedimenti: per settore e per coltura monoconidica che risultò tutta intera albina;

2.°) due stipiti tornati alla coltura originaria H: uno per saltazione, D_a, l'altro per modificazioni successive, C_{5a};

3.°) un saltante zonato E_c;

4.°) uno stipite tornato alla coltura C, da considerarsi come un vero e proprio saltante manifestatosi da coltura monoconidica.



Genealogia delle variazioni ottenute da H.

Da quanto sono venuto esponendo e da molte altre colture e variazioni di cui non ho ritenuto far parola per il loro minore interesse, è chiaro che la specie scelta per queste ricerche è quanto mai dinamica e variabile ed ha una composizione genetica molto eterogenea che si può paragonare, per le sue manifestazioni, a quella dei *Fusarium* studiati da Brown [6] e a quella di *Helminthosporium satirum*. La composizione genetica molto complessa di molti deuteromiceti che forse per questo producono frequenti saltazioni si può oggi spiegare con fondamento di verità, almeno per alcuni casi, col feno-

meno delle *anastomosi* le cui conseguenze sono veramente notevoli per quello che riguarda le variazioni brusche. Una recentissima comunicazione di Hansen e Smith [19] alla 18ª Riunione della Società Fitopatologica Americana del Pacifico rende noto che gli Autori hanno visto avvenire sotto i loro occhi delle anastomosi tra il micelio di una coltura di *Botrytis Allii* con quello di un'altra di *Botrytis Ricini*, eseguite vicine, e di conseguenza formarsi un individuo misto che produsse conidi e che presumibilmente conteneva nelle cellule delle sue ife i nuclei delle due specie originarie. I discendenti monoconidici di questo individuo misto dettero colture in parte simili ad un genitore, ed in parte simili all'altro, ed in parte colture talmente diverse « da considerarsi nuove varietà o persino nuove specie », che rimasero costanti attraverso tre serie di monoconidiocolture. Non è quindi improbabile che molti funghi tra quelli di cui sono state studiate variazioni settoriali si trovino in queste condizioni e che di tanto in tanto, specie se stimolati da ripetute propagazioni su mezzi di coltura artificiali, o si producano delle nuove combinazioni tra il contenuto nucleare eterogeneo o qualche fattore rimasto latente divenga dominante e tale si mantenga in seguito.

Saltazioni stimolate. — La produzione sperimentale di settori saltanti è stata operata da molti Autori sottoponendo le colture agli stimoli più diversi, come variazioni di temperatura (Barnes, Curzi [12], Christensen), radiazioni X (Dickson [14], Nadson e Philippov [24]), raggi ultravioletti (Dickson, Greaney e Machacek), mezzi chimici rappresentati da sostanze aggiunte ai substrati nutritizi (Galloway, Paxton) ecc. Tentativi analoghi ho eseguito anch'io sull'*Heterosporium* sottoponendo le colture di due stipiti all'azione della radioattività, dell'irraggiamento con raggi ultravioletti, delle variazioni di temperatura e dell'aggiunta di sostanze tossiche al substrato colturale.

Radioattività. — Debbo alla cortesia del prof. A. Pirovano, Direttore dell'Istituto di Frutticoltura e di Elettrogenetica di Roma, se ho potuto sottoporre alcune colture

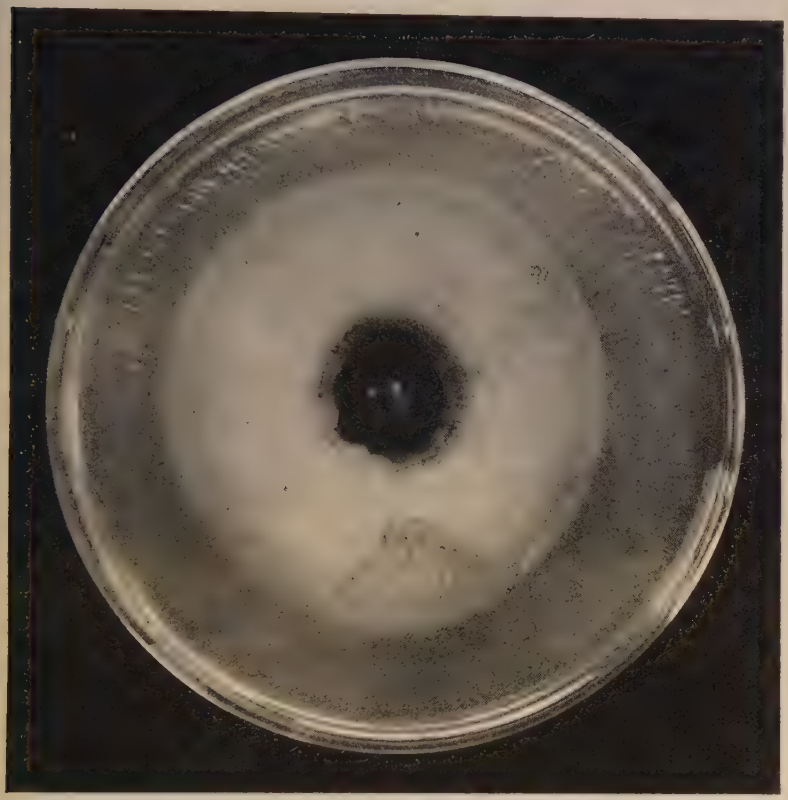


Fig. 10. — Coltura dello stipite C_{3a} sottoposta all'azione dei raggi β e γ del radio per 96 ore e mostrante il settore che ne derivò.

di *Heterosporium* all'irraggiamento di bromuro di radio di cui detto Istituto possiede due campioni: uno di mmg. 1, l'altro di mmg. 1,12. Ho fatto così tre serie di esperienze in ciascuna delle quali mi sono servito di due stipiti ottenuti durante le precedenti ricerche, e cioè

C_{3a} ed F; il C_{3a} era stimolato sempre col pezzo di radio di mmg. 1, l'F sempre col pezzo di mmg. 1,12.

Nella prima prova feci agire i soli raggi β e γ perchè il composto di radio fu applicato sul coperchio della scatola Petri che insieme con lo strato d'aria tra coperchio e coltura era sufficiente a fermare tutti i raggi α.

L'applicazione del radio durò in questa prova 96 ore e si iniziò quando le giovani colture avevano circa tre centimetri di diametro mettendo il composto di radio al centro della coltura in C_{3a} e leggermente di lato in F.

Lo stipite C_{3a} reagì quasi subito allo stimolo delle radiazioni β e γ, inquantochè si iniziò subito la formazione di un settore (vedi fig. 10) che presentava lo stesso colore fondamentale (seppia chiaro) della colonia ma che appariva più chiaro del resto perchè fornito di una quantità molto minore di micelio aereo, aveva inoltre un maggior accrescimento e minor quantità di conidi. Questo settore dello stipite C_{3a} seguìto per tre generazioni, propagate con solo micelio si mantenne costante. Lo stipite F che aveva avuto il composto di radio su un lato della coltura reagì immediatamente e violentemente allo stimolo producendo vari settori di cui solo due ben distinti, uno proprio al di sotto del punto su cui giaceva il radio, di colore grigio-verdastro zonato e con molto micelio aereo, l'altro in posizione quasi opposta al primo, ma chiaro, quasi bianco e molto simile al settore ottenuto da C_{3a}. Il primo settore fu conservato e propagato per alcune generazioni e si mantenne sempre costante; il secondo invece fu trascurato perchè poco netto. Nella seconda prova il composto di radio fu applicato nella parte interna del coperchio della scatola di vetro e al suo centro per modo che agirono i raggi α, β e γ, la durata dell'esposizione fu di 96 ore. Lo stipite C_{3a} non mostrò alcuna modificazione e crebbe come le altre colture di C_{3a}, cioè col centro bruno appena verdastro e la periferia zonata di bianco e bruno-verdastro chiaro; anche lo stipite F non dette settori, ma produsse una colonia molto più chiara che le corrispondenti non sottoposte al radio.

Nella terza prova l'esposizione durò ore 43,30 ed il composto di radio fu, come nella seconda, applicato sotto al coperchio della scatola Petri. Lo stipite C_{3a} non mostrò alcuna reazione, lo stipite F non dette alcun settore ben definito, ma la coltura presentò strie radiali non ben definite con colorazione bruna più chiara. Tuttavia data la mancanza di nette differenziazioni non ho ritenuto di prendere in considerazione queste lievi modificazioni.

Da queste tre prove risulta una maggiore azione del radio quando di esso agiscono i soli raggi β e γ con esclusione dei raggi α.

Radiazioni ultraviolette. — La stimolazione con raggi ultravioletti fu eseguita come nel caso precedente sui due stipiti C_{3a} e F e precisamente su 6 scatole dell'uno e su sei dell'altro esponendole ad un irraggiamento frazionato di 5' al giorno per due giorni, cioè per un totale di 10'; l'apparecchio usato era la lampada a vapori di mercurio della Casa Gallois. Lo stipite C_{3a} si manifestò poco sensibile e meno dello stipite F; infatti mentre il primo non reagì affatto in nessuna delle sei colture, il secondo presentò una sola piastra con sei settori, differenti dal resto della coltura solo per intensità di colorazione e per abbondanza di micelio aereo: di questi, quattro erano uguali tra loro e due differenti dai primi ma eguali tra loro. Con prelevamenti di porzioni periferiche di micelio da questi due gruppi di settori ho eseguito due generazioni successive, ma i caratteri che differenziavano i settori nella colonia irradiata si sono attenuati nella seconda generazione e sono scomparsi nella terza originando colonie uguali ad F.

Variazioni di temperatura. — L'azione della temperatura ha avuto sui due stipiti C_{3a} e F conseguenze molto più marcate che non l'azione dei raggi ultravioletti. Le

esperienze sono state eseguite come segue:

C_{3a} N.° 6 colture (ottenute per trapianto)
sono state poste a 27° C. per 7 giorni e poi passate a 5° C. e infine a 14° C.

C_{3a} N.° 6 colture (ottenute per trapianto)
sono state poste a 5° C. per 7 giorni e poi passate a 27° C. » »

F N.° 6 colture (ottenute per trapianto)
sono state poste a 27° C. per 7 giorni e poi passate a 14° C.

F N.° 6 colture (ottenute per trapianto)
sono state poste a 1° C. per 7 giorni e poi passate a 14° C.

Le colture C_{3a} per tutto il tempo in cui rimasero a 5° C svilupparono micelio bianco-carnicino, appena portate a 27° C. produssero un anello di accrescimento bruno-verde che si mantenne durante tutta la permanenza a 27°, messe poi a 14° C. una di esse ha dato luogo a micelio più chiaro nel quale si sono differenziati settori bianchi e verde-scuri i quali ultimi assomigliavano molto alla colonia originaria *H*. I trapianti eseguiti con ife terminali dei settori bianchi si sono mantenuti per tre generazioni perfettamente bianchi e sterili ed in tutto uguali a C_2 (vedi fot. 4) da cui C_{3a} aveva avuto origine. È questa la terza comparsa del saltante albino in tutta la serie delle ricerche. I trapianti dei settori verdi scuri del C_{3a} hanno riprodotto, fin dal primo trapianto, una colonia identica al capostipite *H*, per cui il settore rappresenta una reversione del saltante monoconidico C_{3a}.

Anche un'altra coltura di C_{3a}, che aveva subìto gli stessi trattamenti, dette settori verdi che nelle successive generazioni ripetettero la coltura originaria *H*. Le piastre di C_{3a} tenute prima al caldo poi a 5° C. si mantennero invece senza settori presentando solo una colorazione generale più scura.

Lo stipite *F* ha reagito sia se sottoposto prima al caldo poi al freddo, sia nel caso inverso. Le colture tenute prima a 1° C. hanno dato micelio bruno-chiaro con zone verdastre, mentre in due di esse si producevano ampi settori verde cupo che interessavano i tre quarti della

coltura (vedi fig. 11). Nelle tre successive generazioni eseguite sia con trapianto dei settori verdi, sia con trapianto del resto della coltura rimasta inalterata, tutte tenute alla temperatura di circa 14° C. ho avuto colture

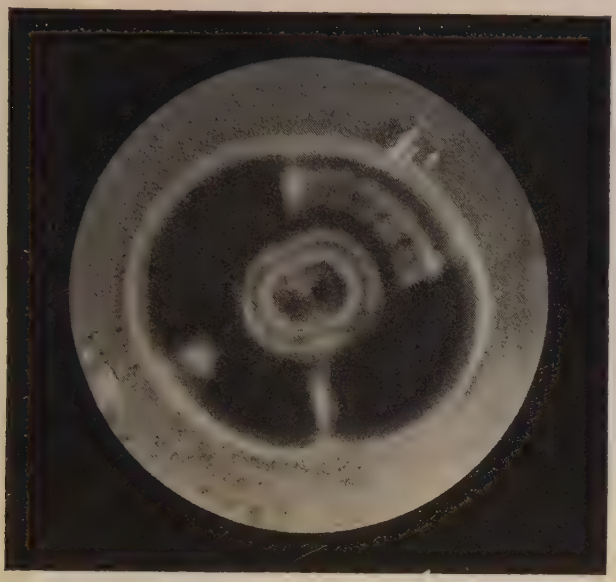


Fig. 11. — Coltura dello stipite *F* stimolata con bassa temperatura (1° C.) mostrante tre grossi settori verde-cupo.

perfettamente identiche ai due tipi di settori; e cioè dai settori verde cupo, colonie come la figura 12 che, essendo uguali a *B* e B_2, rappresentano un saltante di reversione; dai settori costituiti dalla parte inalterata, colture come la figura 13 che erano uguali a *F*.

Tra le piastre conservate prima a 27° C. e poi portate a 14° non ho potuto osservare settori, tuttavia alcune di esse risultarono identiche a quelle del settore scuro della serie precedente (fig. 12), altre rimasero inalterate e ripetettero lo stipite *F* (fig. 13).

È interessante osservare che queste due ultime esperienze hanno dato risultati molto simili sebbene su di

esse abbia agito in un caso una bassa temperatura (1° C.) nell'altro una temperatura comparativamente più alta (27° C.), ma nel primo caso si modificò solo un settore della coltura, nel secondo la coltura intera.

Fig. 12. — Coltura derivata per trapianto di micelio dai settori verde-cupi dello stipite *F* e mantenutasi uguale ai settori (le aree chiare sono dovute a mancanza di agar che fu asportato con degli inquinamenti).

Sostanze tossiche. — Per queste prove di stimolazione ho allestito un terreno nutritizio di agar brodo di carote, uguale a quello delle esperienze precedenti, cui ho aggiunto solfato di zinco in proporzione dell'1‰, su di esso ho seminato frammenti di micelio giovane degli stipiti C_{3a} ed *F*. L'accrescimento è stato molto stentato da principio, poi è stato un po' più rapido, ma sempre molto più lento che nel substrato normale. I due stipiti che

nelle colture originarie erano nettamente distinguibili fra loro, non si potevano affatto riconoscere su agar-carote-solfato di zinco perchè avevano assunto tutti e due una colorazione bruno-nera più o meno intensa. Mentre

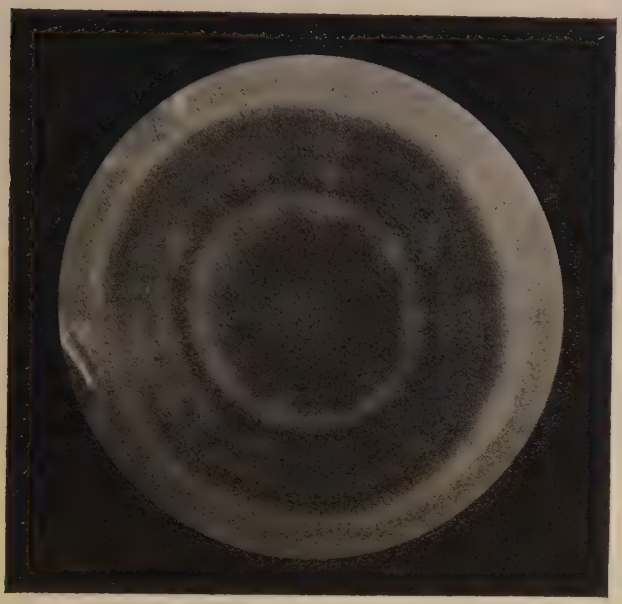


Fig. 13. — Coltura derivata per trapianto di micelio dalla porzione inalterata dello stipite *F*, stimolato con bassa temperatura, e rimasta uguale a *F*.

molte piastre avevano uno sviluppo senza settori, altre, tanto nello stipite C_{3a} quanto in *F*, presentavano un aspetto del tutto particolare (vedi fig. 14), cioè con settori chiari, settori bruno-scuri zonati ed altri bruno-neri dendriformi allungati radialmente.

Le successive generazioni di questi settori sono ancora in corso, non è quindi possibile pronunciarsi sulla loro stabilità o meno.

Un'altra prova di parecchie colture degli stipiti C_{3a} e *F* fu fatta sul solito substrato agar-brodo di carote che

era stato portato ad un'acidità $P_H = 4{,}30$ (misurato servendosi dell'apparecchio del Dott. G. Roeder) con l'aggiunta di acido citrico. In nessuna delle piastre di questa serie ebbero a mostrarsi settori.

Fig. 14. — Coltura dello stipite C_{34} coltivato su agar brodo di carote più solfato di zinco 1 ‰.

Prove della patogenità. — Sebbene in piccolo numero ho voluto fare qualche prova per verificare se il potere patogenico di alcuni saltanti fosse stato modificato col variare delle proprietà morfologiche e fisiologiche. Nel maggio del 1933 ho quindi inoculato su alcuni fillodi di Iris rispettivamente micelio della coltura capostipite *H*, di

A_2, di B_2 e di B_3, il saltante albino sterile ottenuto da B_2. Dopo pochi giorni la maggior parte delle inoculazioni avevano attecchito e la tipica macchia da *Heterosporium* appariva in tutti e quattro i casi; presentandosi in modo eguale senza alcuna differenza. Sebbene questa prova non si sia potuta completare con la reisolazione del fungo, perchè malauguratamente la maggior parte delle foglie andarono perdute per altra causa, tuttavia ha dimostrato che almeno la virulenza del parassita non era diminuita nemmeno nel caso dell'albino.

***

Come conclusione di queste ricerche si può affermare che l'*Heterosporium gracile* è specie non solo molto variabile che cioè presenta molte *modificazioni*, ma anche facile a dare settori di saltazione. Frequentemente si produce un saltante albino sterile che si mantiene inalterato e che in circa due anni non si è dimostrato reversibile; delle altre saltazioni quasi tutte hanno dato, dopo un tempo più o meno lungo e stimolate o no, o la cultura originaria o uno stipite intermedio; una sola è rimasta inalterata, lo stipite E_c.

La stimolazione coi più diversi metodi ha dato una discreta frequenza di settori saltanti: fra gli stimoli più attivi ricordo l'emanazione di radio priva di raggi α e le variazioni di temperatura. Le sostanze tossiche rappresentate da solfato di zinco hanno profondamente turbato l'equilibrio genetico degli stipiti adoprati provocando la formazione di settori abbondanti e quanto mai differenti dagli altri.

Dai saggi eseguiti non sembra che i saltanti ottenuti abbiano modificato il loro potere patogenico, ciò vale specialmente per lo stipite albino, che si è mostrato virulento quanto la coltura originaria, e per altri da questa derivati.

Cesare Sibilia.

SUMMARY

The A. has obtained from mono-conidial cultures of *Heterosporium gracile* many modifications and some saltations. Among these there are specially noticeable: one albino and sterile strain produced either in sector or in whole mono-conidial culture which remained invariable and without regression during about two years; one zonated white and brown strain unreversible in normal growing conditions; many strains differentiated from the original culture in colour and zonations which however at a later stage, reverted to the original cultures. Two strains obtained during the foregoing processes were submitted to the action of radium of ultraviolet rays, of varying temperatures and of toxic additions ($ZnSO_4$) to the media. With radium two saltations have been produced which remained unchanged through many successive generations. With ultraviolet rays sudden variations have never arisen. The variations of temperature determined in one strain the appearance of one albino and sterile form, and in another strain, sectors which resemble one strain obtained in the first series of researches. The zinc sulphate added to the medium has profoundly modified the genetic equilibrium of the strains, producing many sectors of saltations of which some show dendritic streaks lengthened according to the radius of the culture.

From some trials of pathogenicity carried out with three strains which were produced during the course of these researches, it resulted that the pathogenic power has never been modified at all, not even in the albino strain.

LAVORI CITATI

1. Barnes B., *Variations in* Eurotium herbariorum (*Wigg.*) *Link. induced by the action of high temperatures.* « Annals of Botany », XLII, pagg. 783-812, 1928.

2. Barnes B., *Variations in* Botrytis cinerea *Pers., induced by the action of high temperatures.* « Annals of Botany », XLIV, pagg. 825-858, 1930.

3. Barnes B., *Induced variation in fungi.* « Journ. Quekett. Microsc. Club », Ser. 2, XVI, 1931 (consultato in « Rev. of App. Myc. », 1931 pag. 613).

4. Biraghi A., *Variazioni in due ceppi di* Gloeosporium olivarum *Alm. di provenienze diverse.* « Boll. R. Stazione di Pat. veg. », XIV, N. S., pagg. 223-253, 1934.

5 Brierley W. B., *Variation in Fungi and Bacteria.* « Proc. Internat. Congr. Plant Science, Ithaca ». pagg. 1629-1654, 1929.

6. Brown W., *Studies in the genus* Fusarium, *IV. On the occurrence of saltations.* « Annals of Botany, XL, pagg. 223-244, 1926.

7. Burger O, P., *Variations in* Colletotrichum gloeosporioides. « Journ. of Agr. Res. », XX, pagg. 723-736, 1921.

8. Caldis P. D. and Coons H., *Achromatic variations in pathogenic fungi.* « Papers Michigan Acad. Sc. », Vol. VI, pagg. 189-236, 1926.

9. Christensen J. J., *Physiologic specialization and mutation in* Helminthosporium sativum. « Phytopathology », XV, pagg. 785-795, 1925.

10. Christensen J. J., *The influence of temperature on the frequency of mutation in* Helminthosporium sativum. « Phytopathology », XIX, pagg. 155-162, 1929.

11. Christensen C., *Cultural races and the production of variants in* Pestalozzia funerea. « Bull. Torrey Bot. Club. », LIX, pagg. 525-544, 1932.

12. Curzi M., *Ricerche morfologiche e sperimentali su un micromicete termofilo* (Acremoniella thermophila *Cz.*) « Boll. R. Staz. di Pat. veg. », X, N. S., pagg. 222-280, 1930.

13. Dickinson S., *The nature of saltation in* Fusarium *and* Helminthosporium. « Minnesota Agric. Exper. Stat., Tech. Bull. 88 », pagg. 42, 1933.

14. Dickson H., *The effects of X rays, ultraviolet light, and heat in producing saltants in* Chaetonium cochlioides *and other fungi.* « Annals of Botany », XLVI, pagg. 339-404, 1932.

15. Galloway L. D., *The stimulation by dilute antiseptics of « sectoring » in mould-colonies* « Trans. Brit. Mycol. Soc. », XVIII, pagg. 161-162, 1923.

16. Greaney F. J. and Machacek J. E., *Production of a white fertile saltant of* Helminthosporium sativum *by means of ultraviolet radiation.* « Phytopathology », XXIII, pagg. 379-383, 1933.

17. Greene H. C., *Variation in single spore cultures of* Aspergillus Fischeri. « Mycologia », XXV, pagg. 117-138, 1933.

18. Hansen H. N. and Smith R. E., *The mechanism of variation in imperfect fungi*: Botrytis cinerea. « Phytopathology », XXII, pagg. 953-964, 1932.

19. Hansen H. N. and Smith R. E., *Interspecific anastomosis and the origin of new types in Imperfect fungi.* « Report of the 18th. annual Meeting of the Pacific Division of the American Phytopathological Society » in « Phytopathology », XXIV, 10, pagg. 1144-1145, 1934.

20. Matsuura J., *Experimental studies on the saltation in fungi. VI (Preliminary report) On the saltation in the genus* Brachysporium. « Journ. Plant Prot. », XIX, pagg. 121-139, 1932. (Consultato in Rev. of App. Myc. », pag. 584, 1933).

21. Mitra M., *Saltation in the genus* Helminthosporium « Trans. Brit. Mycol. Soc. », XVI, pagg. 115-127, 1931.

22. Moreau F. et Moruzi C., *Sur quelques variations brusques observées chez les Ascomycètes du genre* Neurospora. « C. R. Soc. Biol. », CXI, pagg. 676-677, 1932.

23. Moreau F. et Moruzi C., *Les variations brusques présentées en cours de végétation par les Ascomycètes du genre* Neurospora. « C. R. Soc. Biol. », CXI, pagg. 755-757, 1932.

24. Nadson G. A. and Philippov G. S., *Influence des rayons X sur la sexualité et la formation des mutantes chez les champignons inférieures (Mucorinées).* « C. R. Soc. de Biol. », XCIII, 26, pag. 473, 1925.

25. Palmiter D. H., *Variability in monoconidial cultures of* Ventaria inaequalis. « Phytopathology », XXIV, pagg. 22-47, 1934.

26. Paxton G. E., *Consistent mutation of* Helminthosporium sativum *on a no-nitrogen medium.* « Phytopathology », XXIII, pagg. 617-619, 1933.

27. Petri L., *Le variazioni a salti (« saltations ») dei microrganismi ed il loro significato biologico.* « Atti II Congr. Naz. di Microbiologia », Milano, 1930.

28. Sellschop J. P. F., *A mutation in* Gloeosporium. « Phytopathology », XIX, pag. 605, 1929.

29. Shands H. L. and Dickson J. G., *Variation in hyphal-tip cultures from conidia of* Helminthosporium gramineum. « Phytopathology », XXIV, pagg. 559-560, 1934.

30. Stevens F. L., *The* Helminthosporium *foot-rot of weat, with observations on the morphology of* Helminthosporium *and on the occurrence of saltations in the genus.* « Ill. Dept. Registr. and Educ., Div. of Nat. Hist. Survey, Bull. XIV », pagg. 77-185, 1922. (Consultato in « Rev. of App. Myc. », pag. 59, 1923).

Un marciume delle pesche causato da due specie di "Fusarium„

(*Fusarium herbarum* (Corda) Fr., f. *1* Wr.
e *Fusarium Poae* (Peck) Wr.)

Durante una visita fatta nell'estate scorsa al frutteto dell'azienda agricola dei signori Pezzoli (1), situata ad Altedo presso Bologna, ebbi occasione di osservare che in una certa quantità di pesche, sia ancora sull'albero, sia già raccolte, si era sviluppato un tipo di marciume ben diverso da quello solito prodotto dalla *Sclerotinia cinerea* Schr. I frutti colpiti mostravano, infatti, delle macchie più o meno espanse di un colore rosso-salmone o rosso-vinoso circondate tutt'attorno da un anello bianco candido.

Questo tipo di marciume è prodotto da due specie di *Fusarium* e precisamente dal *F. herbarum* (Corda) Fr. f. *1* Wr. e *F. Poae* (Peck) Wr., la cui determinazione devo alla cortesia del Prof. H. W. Wollenweber del Biologische Reichsanstalt di Berlino, l'illustre specialista in materia di sistematica e patologia dei funghi appartenenti al genere *Fusarium*.

Da quanto mi risulta questa malattia delle pesche è nuova per l'Italia e credo anche per tutta l'Europa, mentre da diversi anni era stata segnalata in America. Marciumi invece di altri tipi di frutta (pere, mele) e prodotti da *Fusarium* sono stati riscontrati oltre che in America anche in Europa; ma non in Italia.

Credo, quindi, opportuno far precedere alla descrizione della malattia un cenno di quanto si conosce sul-

(1) Ringrazio vivamente i Signori Pezzoli per la cortesia usatami nell'inviarmi ripetutamente materiale di studio e per le informazioni fornitemi, delle quali riferirò più avanti.

l'argomento (limitatamente nei riguardi di frutta come pere, mele, pesche), che possa servire di guida a coloro che avranno in seguito da occuparsi di questo marciume che, data la ubiquità degli organismi che lo producono, è probabile esista in qualche altra località in cui è coltivato il pesco, sia pure in quantità tale da renderlo, in condizioni ambientali normali, pressochè trascurabile.

*
* *

La prima segnalazione di *Fusarium* quali agenti del marciume di frutti (1) si deve allo Osterwalder (2) che nel 1904 descrisse questa malattia sulle mele in Germania. Secondo l'A., il *Fusarium* da lui isolato dai frutti alterati era una nuova specie che egli chiamò *F. putrefaciens,* specie che, si vide poi, è identica a *F. herbarum.* Il fungo penetrava nell'interno delle mele attraverso una specie di canale che esiste, nelle varietà studiate, fra il calice e la parte centrale del frutto dove si trovano i semi. Da quel punto si iniziava l'infezione che progrediva in seguito verso l'esterno. Il fungo formava dei piccoli stromi al di sotto delle lenticelle ed attraverso quest'ultime emetteva il micelio e le fruttificazioni conidiche. L'A. riprodusse artificialmente la malattia deponendo porzioni di cultura pura del *Fusarium* su ferite praticate nei frutti. Negativi invece furono i tentativi fatti mettendo delle spore sulla superficie intatta delle mele: « Unsere Fäulnispilz verhält sich also in dieser Beziehung wie andere Fäulnisserreger bei Kernobst, de-

(1) Non considero naturalmente le citazioni di *Fusarium* riscontrati su varî frutti senza che essi fossero riconosciuti quali agenti di marciume.

(2) Osterwalder A., *Ueber eine bisher unbekannte Art der Kernobstfäule verursacht durch* Fusarium putrefaciens *sp. n.* « Centralbl. f. Bakter., Paras., usw. », II Bd. XIII, 5-7, 1904, pagg. 207-213; Bd. XIII, 9-11, 1904, pagg. 330-338.

ren Mycelium ebenfalls nicht im stande ist, durch die unverletze Epidermis einzudringen » (l. c., pag. 333). Tale risultato, che concorda con quello che ho ottenuto io nelle inoculazioni artificiali sulle pesche (V. avanti),

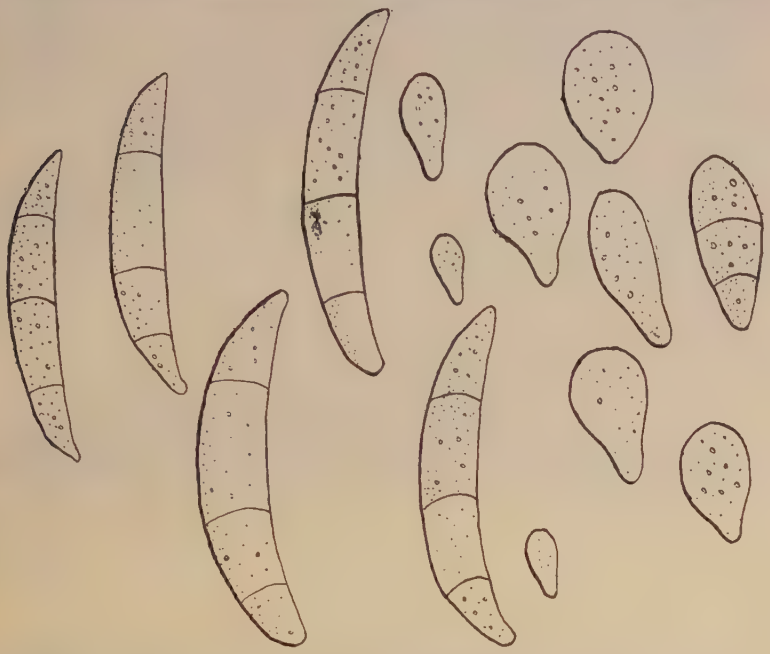


Fig. 1. — Macro- e microconidi di *Fusarium Poae* (Peck.) Wr., isolato dalle pesche affette dal marciume.

è di grande importanza nello studio della malattia che sto trattando.

Successivamente o lo stesso *Fusarium herbarum* od altre specie come *F. lateritium* Nees, var. *fructigenum* (Fr.) Wr., *F. Solani* (Mart.) App. et Wr., *F. sporotrichioides* Scher., sono state riconosciute agenti di marciume in molte regioni (1), ma sempre su frutti di pero e di melo.

(1) Cfr. Horne A. S., *Champignons isolés de pommes atteintes de « spotting » (tachelure), en Grande-Bretagne,* « Bull. d. Renseign. Agr.

Il primo che si sia occupato del marciume da *Fusarium* proprio su pesco è stato, almeno da quanto a me risulta, il Plakidas (1). L'A. ha trovato questa malattia in California: dai frutti ha isolato tre specie di *Fusa-*

Fig. 2.
Macro- e microconidi di *Fusarium herbarum* (Corda) Fr., f. *1* Wr. isolato dalle pesche affette del marciume.

rium: *F. asclerotium* (Scher.) Wr. (=*F. orthoceras*, var. *albido-violaceum* (Dasz.) Wr.), *F. Solani* (Mart.) App. et Wr., e *F. pirinum* Fr. (=*F. herbarum* (Corda)

et d. Mald. d. Plant.», 11, 1920, pagg. 1501-1502; Marchal El. et Em., *Contribution à l'étude des champignons fructicoles de Belgique*, «Bull. de la Soc. Royale de Bot. de Belg.», LVI, 1921, 31 pp.; Ferdinandsen C., *Ueber einen Angriff von Krebs* (Fusarium willkommii *Lindau*) *an Apfel- und Birnfrüchten*, «Angew. Botan.», IV, 4, 1922, pagg. 173-184; Kidd B. A. and Beaumont B. A., *Apple rot fungi in storage*, «Transact. Brit. Myc. Soc.», X, 1924, pagg. 98-118; Balakhonoff P. I., *The cause of bitterness in Apple rots*, «Plant Protection», Leningrad, VI, 3-4, 1929, pagg. 535-536; Brooks C., *Spoilage of stone fruits on the market*. «U. S. Dept. of Agric. Circ. 253», 1933, 11 pagg.

(1) Plakidas A. G., Fusarium *rot of the peach*, «Phytopath.», XV, 1925, pagg. 92-98.

Fr., f. 1 Wr.). La riproduzione artificiale della malattia ha avuto esito positivo. L'A. ha anche tentato di infettare con questi tre funghi rami di peschi e di albicocchi, cosa che ha avuto buon esito soltanto in quelli staccati dalle piante e mantenuti sotto campane di vetro.

Oltre a quello del Plakidas non esiste altro lavoro che tratti particolarmente questa malattia del pesco.

***

Ho già detto sopra che i *Fusarium* da me isolati sono il *F. herbarum*, f. *1* ed il *F. Poae*. Queste due specie sono tra loro sistematicamente abbastanza prossime appartenendo, la prima, al gruppo *Roseum* (1), la seconda al gruppo *Sporotrichiella*.

Tralasciando la citazione di tutti gli altri caratteri sistematici di queste forme, ricorderò solo che il *F. Poae* (una volta compreso nel genere *Sporotrichum*) è caratterizzato dall'avere i microconidî piriformi; (v. fig. 1); nel *F. herbarum* (2) invece i microconidî sono fusiformi (v. fig. 2). Questi due funghi, come dice anche il nome, si trovano specialmente sulle graminacee. Ma tanto l'uno che l'altro sono polifagi ed attaccano piante e parti di pianta differenti: il *F. herbarum* ad esempio, come ho già detto, pere e mele, ed anche i garofani; il *F. Poae* esso pure le mele, i cetrioli ed i garofani (3).

(1) Per la sistematica del genere *Fusarium* mi attengo al Wollenweber in: *Fusarium - Monographie*, « Zeitschr. f. Parasitkde », 3, 1931. pagg. 269-516.

(2) Il Prof. Wollenweber nell'inviarmi la classificazione di questo fungo aggiungeva che esso e la sua *f. 1* sono morfologicamente identici, e differiscono solo per le seguenti particolarità: in *F. herbarum f. 1* lo stroma è color bruno-castagno, mentre nel tipo è rosso-carminio; inoltre *F. herbarum f. 1* ha sporodochî più grossi (del tipo *Tubercularia*) e micelio aereo più abbondante che non il *F. herbarum*. La sinonimia di questo fungo è: *Fusarium herbarum* (Corda) Fr., *f. 1* Wr.=*Fusisporium pirinum* Fries; *Fusarium pirinum* apud Lewis, Charles, Maine; *Fusarium herbarum* (Corda) Fr., var. *pirinum* (Fr., sub specie) Wr.

(3) Cfr. Wollenweber H. W., in Sorauer's *Handbuch der Pflanzenkrankheiten*, Bd. II, T. II, 1933, pagg. 743-745.

⁂

Il marciume si manifesta specialmente quando le pesche sono prossime alla maturazione. L'inizio della malattia avviene quando i frutti sono ancora sulla pianta

Fig. 3. — Pesca della varietà *Hale* colpita dal marciume prodotto da *Fusarium*. L'infezione è abbastanza recente: la zona alterata è ancora ricoperta dal micelio aereo bianco.

e progredisce e si diffonde specialmente dopo la raccolta di essi. Il marciume interessa una parte più o meno estesa del frutto: in certi casi si hanno delle macchie di appena pochi centimetri, in altri casi tutta o quasi la superficie del frutto è alterata (v. figg. 3-6). L'ini-

zio dell'alterazione consiste in una piccola macchia di un colore marrone-chiaro; in questo stadio il micelio del *Fusarium* non compare ancora all'esterno, ma si trova abbondante nella polpa sottostante alla macchia. Procedendo la malattia, si nota dapprima la comparsa di

Fig. 4. — Pesca, come in fig. 3. L'infezione è maggiormente progredita e si sono di già differenziati gli sporodochî del fungo che occupano la parte centrale della zona alterata, circondata tutto attorno dall'anello bianco formato di micelio aereo.

una efflorescenza bianca la quale poi lentamente si afflosscia, per essere sostituita da uno strato di consistenza cerosa, di un colore rosso-salmone o rosso-vinoso, che è costituito dalle fruttificazioni conidiche del *Fusarium*. Tutt'attorno alla zona così colorata esiste quasi sempre un anello bianco-candido formato di micelio del fun-

go. Come ho detto il colore del marciume può essere giallo-salmone o rosso-vinoso: è del primo colore se il fungo che lo determina o predomina nel determinarlo è il *F. herbarum*, del secondo se è il *F. Poae*.

Incidentalmente ricordo che talvolta il fungo si sviluppava anche sui rami: formava delle piccole masserelle colorate, costituite dagli sporodochî, in corrispondenza dei punti in cui per cause parassitarie o in conseguenza di lesioni veniva emessa della gomma. Indubbiamente in tale caso il *Fusarium* non produceva alcun danno. È da tener presente, in ogni modo, che sono stati descritti danneggiamenti, anche abbastanza gravi, da attacchi di *Fusarium* proprio sui rami del pesco (1).

In genere l'attacco di questi *Fusarium* avviene in corrispondenza di qualche lesione di continuità che per qualsiasi ragione si sia prodotta alla superficie del frutto, mentre credo sia ben raro il caso di attacco su pesche in cui l'epidermide sia intatta, come si può dedurre anche dai risultati delle inoculazioni artificiali, delle quali riferirò più avanti.

Nella grandissima maggioranza dei casi da me osservati il marciume si iniziava attorno alle ferite che nello sfarfallare produceva la *Cydia* (*Laspeyresia*) *molesta* Busck, l'insetto che in questi ultimi anni ha prodotto sì gravi danni e procurato tante apprensioni fra i nostri frutticultori. È questo un nuovo esempio fra i tanti che s'incontrano nello studio delle malattie delle piante, in cui un parassita oltre ai danni che procura direttamente si rende nocivo col permettere od agevolare il parassitismo di altri. Oltre a quelle prodotte dalla *Cydia* (2), vanno tenute presenti anche le lesioni che si producono

(1) Roberts J. W., *A bud rot of the peach caused by a species of* Fusarium, « Journ. Agr. Res. », 26, 1923, pagg. 507-511.

(2) Il frutteto dei Signori Pezzoli che io ho visitato era gravemente colpito dall'attacco della *Cydia*.

in seguito alla grandine, specialmente se caduta quando la frutta è prossima a maturare, rosioni di insetti diversi e le altre varie incidentali.

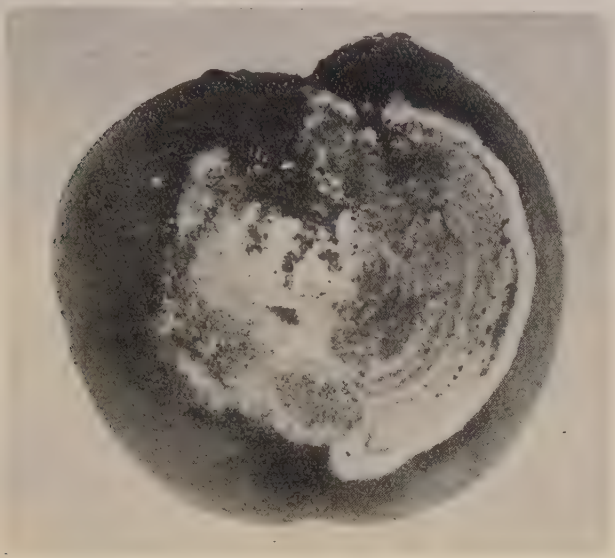


Fig. 5. — Pesca fortemente colpita dal marciume che ha invaso quasi la metà del frutto.

***

Un altro punto importante da considerare nello studio di questa malattia, è il modo con cui vengono trasportati e diffusi gli agenti che la determinano. Fin dal 1907 Heald e Wolkott, e Stewart e Hodgkiss studiando il comportamento biologico del *F. Poae* (*Sporotrichum Poae* secondo gli autori) che produceva un diffuso marciume dei fiori di garofano, segnalarono la presenza, nell'interno dei fiori ammalati e frammisti alle fruttificazioni del fungo, di un acaro : *Pediculopsis graminum* Reuter (=*Pediculoides dianthophilus* Wolkott). La sospettata funzione di questo acaro quale vettore delle spore di *Fusarium* fu sperimentalmente provata nel 1912 da Molz e

Morgenthaler (1); secondo questi autori i rapporti fra i due organismi costituiscono una simbiosi mutualistica vera e propria: il *Pediculopsis* trasporta il *Fusarium*

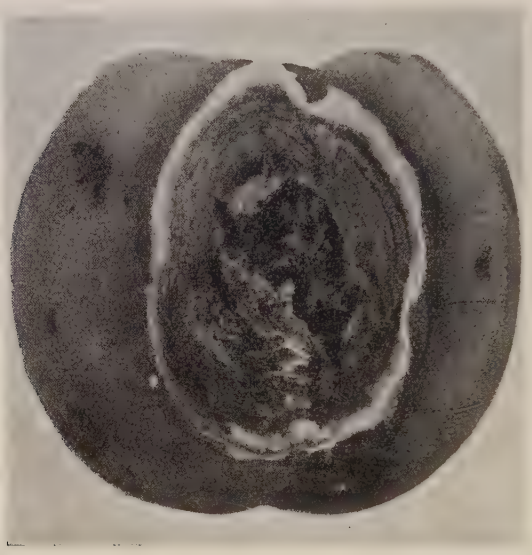


Fig. 6. — Nella parte centrale della zona alterata di questo frutto si distinguono ancora le ferite prodotte dalla *Cydia molesta* Busk, in corrispondenza delle quali si è iniziata l'infezione.

nel punto ove esso può svilupparsi ed il fungo, producendo il marciume delle parti della pianta che attacca, procura all'acaro la sostanza di che nutrirsi. Tali associazioni mutualistiche fra organismi così diversi sono assai frequenti: tralasciando la citazione dei moltissimi altri e, del resto, ben noti esempî che potrei dare, ricorderò solo che il Peyronel (2) ha constatato questo feno-

(1) Molz E. und Morgenthaler O., *Die* Sporotrichum - *Knospenfäule, eine für Deutschland neue Nelkenkrankheit*, « Ber. d. deutsch. bot. Gesell. », Bd. XXX, 1912, pagg. 654-662.

(2) Citato in Petri L., *Rassegna dei casi fitopatologici più notevoli osservati nel 1926*, « Bollettino R. Staz. Pat. Veg. », n. s., VII, 1927, pagg. 32-33.

meno proprio fra un acaro dello stesso genere *Pediculopsis* ed il fungo *Acremoniella occulta* Cavara, che attacca il grano. Non è improbabile che altrettanto avvenga nel caso del marciume delle pesche, dato che gli acari si trovano così di frequente su tutte le frutta marcescenti.

***

Di particolare interesse sono stati i risultati ottenuti con la riproduzione artificiale della malattia.

Le inoculazioni le ho eseguite con entrambe le specie di *Fusarium*, sia separate che associate, in ambiente umido ed asciutto, e su pesche più o meno mature; in certi casi ho praticato una ferita nel punto ove deponevo il fungo, in altri ho lasciato la superficie intatta, in altri ancora ho inoculato nell'interno del frutto, mediante una siringa, una sospensione di spore in acqua sterile, chiudendo successivamente il foro lasciato dall'ago.

I risultati ottenuti sono:

1.°) Il marciume delle frutta di Pesco prodotta da *Fusarium* si riproduce assai bene artificialmente.

2.°) Non vi è grande differenza fra la virulenza e la rapidità di azione patogena dei due funghi; il *F. Poae* si è mostrato leggermente più attivo.

3.°) I due funghi associati producono un effetto, rispetto all'entità dell'infezione, pressochè identico a quello prodotto quando agiscono separati.

4.°) Su pesche mature il progredire dell'infezione è assai più rapido che su quelle non mature.

5.°) In ambiente umido l'infezione si sviluppava velocemente producendo abbondante micelio aereo; in ambiente asciutto il decorso della malattia era invece più lento e veniva prodotto poco micelio aereo e molti sporodochî. In quest'ultime condizioni, però, le frutta riproducevano molto bene l'aspetto che avevano quelle ammalate naturalmente.

6.°) L'infezione ha avuto esito sempre positivo quando veniva eseguita mediante lesione alla superficie del frutto: nel caso contrario, in genere, no. Solo in certi casi quando assieme alla piccola quantità di micelio e di spore che deponevo sui frutti vi aggiungevo un pezzo piuttosto grosso di agar nutritivo e mantenevo in ambiente umido, le pesche si ammalarono.

7.°) Le inoculazioni con sospensioni di spore in acqua, iniettate nell'interno del frutto non hanno dato alcun attendibile risultato. In esse non si è manifestato nulla che facesse pensare al marciume del *Fusarium*, almeno fino a che l'invasione di altri funghi ubiquitarî (*Rhizopus*, *Penicillium*, ecc.) non mi ha costretto a sospendere l'osservazione.

8.°) Nel corso all'incirca di una settimana dal momento dell'inoculazione del parassita nei frutti, almeno nelle condizioni sperimentate, il marciume si era completamente sviluppato con la comparsa delle caratteristiche macchie colorate (v. fig. 7).

Le inoculazioni artificiali hanno quindi confermato quanto si poteva dedurre circa il comportamento biologico della malattia, dalle osservazioni fatte in natura. Il marciume da *Fusarium* cioè è grandemente favorito dalle lesioni all'epidermide del frutto, attacca con maggior successo le pesche prossime alla maturazione ed è favorito dall'umidità. È anche da tener presente il risultato ottenuto deponendo i *Fusarium* sulla epidermide intatta del frutto e mettendo a disposizione del fungo una certa quantità di sostanza nutritiva e mantenendo l'ambiente umido, perchè, si è visto, che in tal caso può avvenire l'infezione. Questo fatto si può spiegare ammettendo una virulentazione del *Fusarium*, grazie alla sostanza nutritiva di cui può usufruire, tale da rendergli possibile l'ingresso attraverso l'epidermide sana, cosa di cui non aveva la capacità altrimenti. Non sarebbe neppure questo un fenomeno nuovo nella biologia dei funghi patogeni; anzi ne sono conosciuti parecchi che

addirittura abbisognano, prima di riuscire ad agire quali parassiti, di un periodo più o meno lungo di vita saprofitaria (ad esempio alcuni funghi prima terricoli,

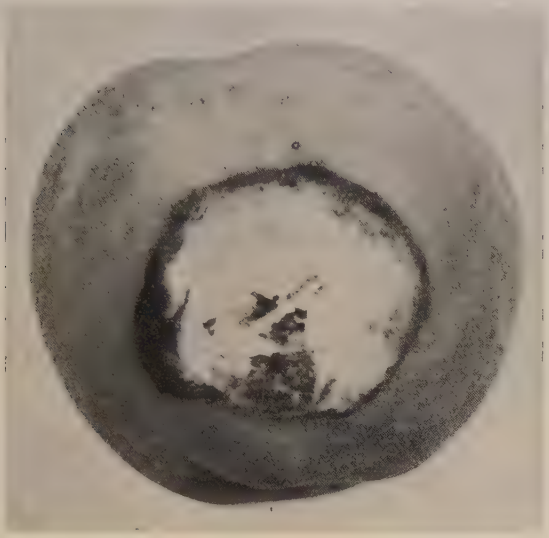


Fig. 7. — Pesca inoculata con *Fusarium Poae* fotografata 12 giorni dopo l'inoculazione. Al di sotto del micelio bianco si era già differenziato lo strato color rosso-vinoso, caratteristico del marciume prodotto da questo fungo.

poi parassiti dell'apparato radicale di certe piante, i parassiti da ferita, ed altri) (1). Condizioni pressapoco

(1) Circa i fattori che influenzano l'attacco dei varî funghi sulle frutta si possono vedere, fra gli altri, i seguenti lavori che riguardano in special modo il *Fusarium*: Tomkins R. G., *The water relatioships of fruit-rotting fungi*, « Dept. Sci. and Indus. Res. Rept. Food Invest. », Board for the year 1927, 1928, pagg. 36-38; Idem, *Studies of the growth of moulds. I*, « Proc. Roy. Soc. London », Ser. B., CV, B. 738, 1929, pagg. 375-401; Horne A. S., *Biological work*, « Dept. Sci. and Indus. Res., Rept. Food. Invest », Board for the year 1930, 1931, pagg. 162-172; Idem, « Ibidem », Board for the year 1932, 1933, pagg. 279-300; Brian P. W., *Experimental study of moulds responsible for the wastage of Apples*, « Dept. Sci. and Indus. Res., Rept. Food. Invest », Boad for the year 1932, 1933, pagg. 66-68.

identiche a quelle sperimentali ora accennate si possono presentare quando, dopo la raccolta, i frutti vengono messi nelle ceste o nei magazzini prima della vendita. In tali condizioni l'infezione si potrà diffondere agevolmente in conseguenza del contatto delle pesche ammalate con quelle sane.

⁂

Resta ora a parlare dei danni che questo nuovo marciume arreca. Fortunatamente, date le particolari condizioni che si richiedono per il suo sviluppo, non gravi.

Da comunicazioni avute dai Signori Pezzoli, la percentuale massima di attacco si è verificata nella varietà *Krummel October*, dove venivano colpiti dal 5 al 10% dei frutti; subito dopo viene la varietà *Hale*. Le pesche colpite non erano utilizzabili più in nessuna maniera.

Il danno che può causare questa malattia riguarda in special modo le pesche che per varie imperfezioni, specialmente per lesioni, non sono ammesse all'esportazione e sono quindi destinate al mercato locale, perchè è proprio in esse che si riscontrano più facilmente le condizioni che favoriscono l'attecchimento del parassita. Ed infatti è su quelle che erano state scartate per la presenza dei fori di sfarfallamento della *Cydia*, che con maggiore intensità è comparso il marciume.

⁂

Ritengo sia abbastanza facile combattere questa malattia. È sufficiente eliminare quanto prima i frutti che presentino le caratteristiche macchie, distruggendoli sul luogo. È da evitare poi nel modo più assoluto che si mescolino dei frutti alterati con quelli sani nelle cassette e nelle ceste o nei cumuli dei magazzini. Prevenire la malattia non è certo possibile data la ubiquità degli

organismi che la producono e la probabile diffusione di essi ad opera degli acari e piccoli insetti (1) difficilmente raggiungibili con gli ordinarî mezzi di lotta.

Marciumi prodotti da altri funghi.

Poichè nel materiale pervenutomi su mia richiesta oltre a frutta colpite da *Fusarium*, ve ne erano alcune in cui l'alterazione era prodotta da altri funghi, ritengo opportuno richiamare l'attenzione anche su questi marciumi (che in certi casi possono essere confusi con quello da *Fusarium*) descrivendone con poche parole i caratteri.

Trichothecium roseum Link (2). — Non molto frequente. Sul frutto forma dei depositi di un colore rosa-carne che potrebbero essere confusi con quelli di *Fusarium herbarum*. Mentre però nel marciume da *Fusarium* la macchia è occupata da uno strato di consistenza cerosa, in quello da *Trichothecium* lo strato è feltroso e si affloscia con una piccola pressione delle dita. Le macchie di *Trichothecium* sono poi di forma assai variabile, irregolare, mentre quelle del *Fusarium* sono in genere rotondeggianti od ovali.

Rhizopus nigricans Ehrenb. (3). — Questo marciume non è confondibile con quello da *Fusarium* se non nei primi stadî quando non si sono ancora differenziate le frutti-

(1) Cfr. Hansen H. N., *Thrips as carriers of Fig-decaying organism*, « Science », n. s., LXIX, 1929, pagg. 356-357.

(2) Fra gli altri cfr.: Iwanoff K. S., *Ueber* Trichothecium roseum *Link als Ursache der Bitterfäule von Früchten*, « Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. », XIV, 1904, pagg. 36-40; Balakhonoff P. I., *The cause of bitterness in Apple rots*, « Plant Protection », Leningrad, VI, 1929, pagg. 535-536.

(3) Fra gli altri cfr.: Anderson H. W., Rhizopus *rot of peaches*, « Phytopath. », XV, 1925, pagg. 122-124; Brooks C., *Spoilage of stone fruits on the market*, « U. S. Dept. of Agric. Circ. 253 », 1933, 11 pagg. Peyronel B., *Il marciume amaro o marciume del cuore delle mele e delle pere*. « Boll. mens. di inf. e not. », II, 1921, pp. 23-27.

ficazioni. Quando queste compaiono rivestono il frutto di una efflorescenza nera, molto caratteristica. Il marciume da *Rhizopus* è abbastanza frequente.

PENICILLIUM spp.; ALTERNARIA spp.; ed altri. — Tutti questi funghi li ho notati assieme e specialmente dopo l'attacco degli altri sopra accennati e contribuivano a produrre il marciume dei frutti. Difficilmente davano luogo a delle macchie essi soli.

G. GOIDÀNICH.

Roma, Ottobre 1934-XII.
R. Stazione di Patologia Vegetale

RIASSUNTO

È descritto un marciume delle pesche causato da due specie di *Fusarium*: *F. herbarum* (Corda) Fr., f. *1* Wr. e *F. Poae* (Peck) Wr. Questa malattia non era ancora stata riscontrata in Italia.

Sono brevemente ricordati i principali lavori che riguardano i marciumi delle frutta prodotti da *Fusarium*, ed i caratteri di *F. herbarum* e *F. Poae*.

La malattia colpisce le pesche prossime alla maturazione, sia quando si trovano ancora sulla pianta, sia quando sono già raccolte. Sul frutto si formano delle macchie color marrone, che sono in seguito rivestite da una efflorescenza miceliale bianca ed in ultimo da uno strato di consistenza cerosa, di un colore giallo-salmone o rosso-vinoso, costituito dagli sporodochî del fungo. La macchia è del primo colore se il marciume è totalmente o prevalentemente determinato da *F. herbarum*; del secondo se da *F. Poae*.

L'attacco dei *Fusarium* avviene quasi sempre, nei casi studiati, in corrispondenza delle ferite prodotte, nello sfarfallare, dalla *Cydia* (*Laspeyresia*) *molesta* Busck.

Il marciume si riproduce assai bene artificialmente. I risultati, ottenuti con le inoculazioni artificiali, confermano le osservazioni fatte in campo e cioè che: il mar-

ciume è favorito dalle lesioni dell'epidermide del frutto, dall'umidità, dalla maturità dei frutti.

I due *Fusarium* sono stati trovati talvolta anche sui rami in vicinanza dei punti ove veniva emessa della gomma: in tal caso non producevano danno.

La più soggetta al marciume è la varietà *Krummel October*, col 5-10% di frutti ammalati; segue la varietà *Hale*.

Quali mezzi di lotta è consigliata la distruzione dei frutti colpiti appena che mostrino l'inizio dell'infezione.

In appendice segue una breve descrizione di marciumi, riscontrati nell'estate 1934, prodotti da altri funghi: *Rhyzopus*, *Trichothecium*, *Penicillium*, *Alternaria*, ecc.

Queste malattie sono state riscontrate e studiate nel frutteto dell'azienda agricola dei Signori Pezzoli, situata ad Altedo presso Bologna.

SUMMARY

Here is described *Fusarium* fruit rot of the peaches in Italy.

Two forms of Fusarium were isolated from decaying peaches: *F. herbarum* (Corda) Fr., f. *1* Wr. and *F. Poae* (Peck) Wr. The affected fruits show a large area of a salmon pink or vinous-red colour surrounded by a white ring of aerial mycelial growth.

Inoculation experiments with these *Fusarium* on wounded fruits, and sometimes on unwounded also, gave positive results. The rot is favoured by moistness, by the wounds of the epidermis and ripeness of the fruits. In field the wounds, which the insect *Cydia* (*Laspeyresia*) *molesta* Busck produces, gave entrance to the fungus. Control consist in the immediate destruction of all affected fruits.

A brief description of rot caused by *Trichothecium roseum* Link, *Rhizopus niger* Ehrenb., and others moulds is added.

Esperienze sulla formazione di sughero delle ferite in porzioni di tuberi di patata irradiate con raggi ultravioletti

È noto come fra le radiazioni non visibili dello spettro i raggi ultravioletti determinino sui tessuti che vengono a loro esposti, degli effetti che variano a seconda dell'intensità e della durata delle irradiazioni: a minime dosi di queste i tessuti reagiscono con una esaltazione della loro funzionalità, però, man mano che l'intensità radiante aumenta, tale esaltazione raggiunge un punto critico al di là del quale i tessuti mostrano segni di deperimento, che può spingersi fino alla morte degli elementi costituenti il tessuto.

Ho ritenuto perciò che potesse essere di un qualche interesse studiare il comportamento di porzioni di tuberi di patata irradiate con dosi variabili di raggi ultravioletti e ciò specialmente in rapporto alla formazione del sughero delle ferite.

I tuberi venivano dapprima lavati in acqua corrente e poi in sublimato corrosivo 0,1%. Venivano sezionati e delle due metà così ottenute, l'una era esposta alle radiazioni, mentre l'altra veniva tenuta per controllo. Dopo il trattamento, le due metà di ciascuna patata venivano poste in camera umida.

Come sorgente di raggi ultravioletti ho adoperato una lampada di quarzo *Gallois* a vapori di mercurio, di 5 Amp., che durante il suo funzionamento tenevo alla distanza di 50 cm. dai tuberi. Inoltre per evitare che i risultati dell'esperienza potessero venir falsati dalla elevata temperatura originata dalla lampada, facevo passare

al disopra dei tuberi una corrente d'aria proveniente da un ventilatore. Con tale sistema lo scarto di temperatura che si verificava, dopo un'ora di continuo funzionamento della lampada, non è mai stato superiore ai 3° C. La corrente d'aria prodotta dal ventilatore era fonte però di un altro inconveniente: l'eccessivo prosciugarsi della superficie di taglio dei tuberi; non potendo ovviare a ciò, per esattezza di confronto, sottoposi anche i controlli ad una identica corrente d'aria.

Ogni esperienza generalmente consisteva nella irradiazione di quattro semi-tuberi e ciascuna metà era sottoposta a 15', 30', 45' o 60' di irradiazione.

Dopo 24 ore i tuberi con i rispettivi controlli venivano esaminati e tale esame veniva ripetuto varie volte fino all'ottavo giorno, avendo cura di prelevare i pezzetti da osservare sempre uno lontano dall'altro per evitare che si potesse essere tratti in errore da sughero formatosi in seguito ai tagli praticati per il prelievo.

L'esame della superficie del taglio delle metà dei tuberi di controllo, quasi sempre già dopo le prime 24 ore, permetteva di constatare delle differenze con le corrispondenti metà irradiate.

Meno rare eccezioni, le sezioni praticate nei controlli mostravano l'imbrunimento della prima fila di cellule, quelle cioè che erano state colpite dal taglio per il dimezzamento dei tuberi; a volte nello strato immediatamente a contatto con queste e generalmente in quello più interno era visibile l'ispessimento suberoso delle pareti volte verso la superficie della ferita; in qualche caso ho osservato già la presenza delle prime divisioni trasversali prodotte dal fellogeno.

Il processo di suberificazione procedeva poi rapidamente e, al più tardi, al terzo giorno dopo il taglio erano visibili numerosissime divisioni ed il processo di cicatrizzazione poteva ritenersi vicino ad essere compiuto.

Nei tuberi irradiati, già dopo 24 ore, era possibile constatare come essi avessero subìto delle modificazioni che

non erano eguali per tutti, ma che erano invece in rapporto con i diversi periodi di tempo in cui l'irradiazione aveva agito sulla loro superficie di taglio.

La constatazione più notevole era data dall'estendersi in profondità della zona imbrunita che non si limitava, come nei controlli, alle cellule rotte dal taglio ed a quelle dello strato successivo, ma comprendeva anche i primi strati sottostanti e che, nei casi di irradiazione più forte (1 ora), poteva comprendere fino a tre strati.

Oltre questa azione di necrosi più o meno profonda, a seconda dell'intensità con cui i tuberi erano stati irradiati, si notava l'assenza di ogni formazione suberosa. Solo le porzioni di patata irradiate debolmente, per 15', a volte, oltre a non presentare, rispetto ai controlli, un maggiore approfondimento dello strato necrosato, mostravano un inizio di cicatrizzazione con l'ispessimento delle pareti delle cellule volte verso la superficie della ferita.

Le patate irradiate con dosi più lunghe iniziavano il processo di suberizzazione nei giorni successivi e questo era sempre localizzato profondamente nei tessuti. È da notare però che, in questi casi di sughero formatosi profondamente nei tessuti, si potevano notare costantemente due o più strati di cellule contenenti pochi granuli di amido e che avevano rispetto alla formazione del sughero un comportamento indifferente. Esse si trovavano tra gli strati necrosati ed imbruniti ed il primo strato suberificato. A giudicare dalla posizione di tali cellule e dal loro comportamento nella formazione del sughero si sarebbero dovute ritenere prive di vita, se un'osservazione, su cui fra poco riferirò, non portasse ad una conclusione opposta.

Per dare un'idea più schematica di quanto ho finora esposto, ritengo utile riportare alcuni dati che corrispondono a quelli di molte altre osservazioni consimili.

Osservazione dopo 4 giorni dal taglio ed irradiazione.

U. V. per 15' — Divisioni numerose nelle cellule del III° e IV° strato
Controllo — Divisioni numerose nelle cellule del II° e III° strato
U. V. per 30' — Qualche divisione nella zona vascolare del IV° strato
Controllo — Divisioni numerose nelle cellule del II° e III° strato.
U. V. per 45' — Nessuna divisione.
Controllo — Divisioni numerose nelle cellule del II° e III° strato.
U. V. per 60' — Nessuna divisione.

Osservazione dopo 8 giorni dal taglio ed irradiazione.

	strati cellulari indifferenti	strati cellulari a parete suberificata	divisioni del sughero
U. V. per 15'	0	2	moltissime, fitte
Controllo	0	2	moltissime, fitte
U. V. per 30'	1-2	1	nessuna
Controllo	0	2	moltissime, fitte
U. V. per 45'	3	1	nessuna
Controllo	0	2	moltissime, fitte
U. V. per 60'	4	1	nessuna
Controllo	0	2	4-5

Osservando i dati esposti nelle due tabelle si può notare come tra la durata dell'esposizione ai raggi ultravioletti ed il ritardo nella formazione del sughero e la profondità in cui esso si forma esista una diretta correlazione.

Una conseguenza di natura biologica di queste constatazioni la si ha dal seguente fatto. Allorquando i tuberi irradiati ed i rispettivi controlli vengono conservati in camera umida non sterile o quando sulle superfici di taglio di essi si porta una sospensione di conidi di *Penicillium* si può osservare come sia estremamente raro che il fungo attecchisca sui controlli e sui tuberi debolmen-

te irradiati, mentre il suo sviluppo è più o meno rigoglioso sulle patate che hanno subìto una lunga dose di irradiazione.

Da quanto sopra, risulta in modo evidente come anche tra l'inquinamento dei tuberi per opera del fungo e l'entità dell'irradiazione venga a stabilirsi una stretta correlazione.

Esaminando però sezioni di tuberi inquinati, fatte nei punti ove vi è sviluppo di *Penicillium*, ho potuto constatare come le cellule sottostanti a quelle invase dal micelio suberizzassero le pareti e dessero origine a divisioni trasversali. A volte questa cicatrizzazione avviene in cellule appartenenti a quello strato che si mostra indifferente allo stimolo proveniente dalla superficie del taglio irradiata.

Ho avuto l'opportunità di cogliere questo fenomeno in vari stadi e di osservare che la cicatrizzazione in cellule degli strati intermedi indotta dal *Penicillium*, oltre a verificarsi prima dell'inizio della cicatrizzazione normale degli strati più profondi, indotta dall'azione della irradiazione, determinava in un secondo tempo una linea di suberificazione ondulata e non parallela alla superficie del taglio; era localizzata cioè più profondamente nei punti lontani dall'invasione di *Penicillium* e si rialzava nelle loro adiacenze. A volte, invece, se la penetrazione del micelio era stata più rapida, la cicatrizzazione avveniva in profondità, ma la sua comparsa si verificava nelle cellule adiacenti a quelle invase dal fungo con un certo anticipo su quelle ad esse vicine.

Nel corso di queste esperienze ho applicato anche delle varianti nel trattamento dei tuberi durante le irradiazioni, ma i risultati ottenuti non si sono allontanati da quanto ho finora esposto.

Subito dopo aver sezionato i tuberi in condizioni di sterilità, ricoprivo le superfici del taglio con cellophane sterilizzato all'autoclave; con questo metodo sono riuscito ad evitare con facilità ogni inquinamento.

Ho provato anche ad inumidire frequentemente durante l'irradiazione le superfici di taglio : ciò è stato fatto sia con acqua distillata, sia con una soluzione di acido citrico pH 2, sia infine con soluzioni di carbonato di soda a pH 12. Tali prove non hanno alterato per nulla i risultati già ottenuti e la modificazione del pH verificatasi sulla superficie del taglio non sembra aver avuto alcuna influenza sui processi di suberificazione.

L'azione dei raggi ultravioletti è stata chiaramente letale su tutta la superficie di ferita e si è estesa più o meno in profondità in rapporto al minore o maggior tempo in cui essa ha agito.

Ciò concorda con quanto si sa sulle caratteristiche abiotiche di tali radiazioni, se agenti con forte intensità.

Un fatto però che può suscitare un certo interesse è quello osservato sulla formazione profonda del sughero e sulle modificazioni di questo processo indotte dalla presenza di invasioni di *Penicillium*.

Come ho già fatto notare, la irradiazione provoca la necrosi di uno o più strati contigui alla superficie del taglio e questi sono caratterizzati da un imbrunimento, con tutta probabilità attribuibile a processi di ossidazione ; al disotto della zona imbrunita si riscontrano alcuni strati di cellule povere di contenuto e che non formano sughero, ma che pertanto non possono considerarsi uccise perchè a volte reagiscono all'invasione del *Penicillium ;* finalmente al disotto di queste si trovano uno o più strati cellulari nei quali si origina un fellogeno.

Haberlandt ha tentato di spiegare il fatto che in molti casi si ha una cicatrizzazione profonda, formulando l'ipotesi che ciò sia dovuto ad una superstimolazione proveniente dalla superficie di ferita.

Questo eccesso di stimolo impedirebbe agli strati più prossimi alla zona ove ha avuto luogo il trauma di reagire ed agirebbe solo su quelli più profondi.

Il Prof. Petri, a conclusione di alcune sue ricerche in merito, ha espresso l'opinione che nei casi di formazione di sughero profondo « non si possa parlare di una superstimolazione, ma piuttosto di uno stato di sofferenza generale in cui trovasi la cellula, per la rottura dell'equilibrio osmotico e per la brusca modificazione di tutte le altre sue condizioni fisiologiche, o anche per l'azione tossica di prodotti delle cellule necrosate. Questo stato di sofferenza, che può diffondersi a qualche strato cellulare al disotto della ferita, lungi dall'impedire la trasmissione dello stimolo, almeno entro un certo limite di gravità, viene ad intensificarlo, ma come è facile comprendere, la reazione non può verificarsi che nelle cellule ancora più profonde che si trovano in condizioni fisiologiche normali per poter dare origine al fellogeno ».

Considerando i risultati ottenuti dall'azione esercitata dai raggi ultravioletti, si deve ritenere che essi producano una necrosi negli strati superficiali, che sono quelli più intensamente colpiti, mentre negli strati immediatamente a contatto con i primi, determinano soltanto delle alterazioni più blande che indeboliscono le cellule fino al punto da renderle incapaci di reagire allo stimolo proveniente da quelle adiacenti uccise. Poichè è noto come i raggi ultravioletti inducano numerose modificazioni fisico chimiche, tra le altre una parziale idrolisi dell'amido ed inattivazione di alcuni fermenti, è molto verosimile in questo caso considerare che tale indebolimento delle cellule sia dovuto ad un'alterazione dell'equilibrio fisiologico degli elementi dello strato intermedio e non ad una azione inibitoria dipendente dall'intensità dello stimolo proveniente dalla superficie del taglio.

Prendendo poi in esame le osservazioni da me fatte sull'azione stimolatrice indotta dal micelio di *Penicillium* sulle cellule indebolite, si è condotti a pensare che lo stimolo a produrre sughero, proveniente dalla superficie della ferita, sia di natura o di intensità differente

da quello indotto dal *Penicillium;* oppure si deve ritenere che le secrezioni del micelio nella cellula ospite o i prodotti del suo metabolismo determinino delle modificazioni tali da ripristinare una condizione di equilibrio fisiologico nella cellula indebolita, così da renderla di nuovo recettiva e capace quindi di una pronta reazione.

Vi è poi anche la constatazione che la presenza del micelio del fungo anticipa la suberificazione in quelle cellule degli strati profondi che avrebbero normalmente reagito, in un tempo successivo, allo stimolo proveniente dalla superficie di ferita.

Tutte queste considerazioni ancor più portano ad escludere l'ipotesi della superstimolazione in quanto, in questo caso, allo stimolo originario indotto dai raggi ultravioletti viene ad aggiungersi quello indotto dal fungo; questa somma dovrebbe quindi, secondo la teoria di Haberlandt, indurre un maggior approfondimento della capacità a reagire.

La riacquistata recettività ed eccitabilità di cellule che in apparenza sembravano colpite nella loro vitalità e l'anticipata reazione di altre porterebbero inoltre forse ad intravedere la possibilità dell'esistenza di stimoli differenti per natura o per intensità a seconda delle cause che li hanno determinati (1).

A. Biraghi.

RIASSUNTO

L'Autore descrive delle esperienze fatte sulla formazione di sughero delle ferite in porzioni di tuberi di patata irradiate con raggi ultravioletti, ed il comporta-

(1) La questione della formazione di una sostanza stimolante l'accrescimento (*Wuchsstoff*) da parte del *Penicillium* sarà presa in considerazione in ulteriori ricerche.

mento dei fenomeni cicatriziali in seguito all'invasione, sulle superfici di taglio, di *Penicillium*.

Riguardo all'azione dei raggi ultravioletti su porzioni di tuberi sterili, è comparso chiaramente che essa è letale su tutta la superficie di ferita e si è estesa più o meno in profondità in rapporto al minore o maggiore tempo in cui essa ha agito.

L'A. ha constatato che la presenza del *Penicillium* induce delle modificazioni sulla profondità della formazione del sughero; le osservazioni fatte a questo proposito permettono di dare una interpretazione del processo della cicatrizzazione profonda contrario a quello espresso dal Haberlandt (che riteneva questo fenomeno dovuto ad una superstimolazione proveniente dalla superficie di ferita ed in seguito alla quale gli strati più prossimi a questa superficie perderebbero la capacità di reagire, capacità che verrebbe conservata in quelli più profondi). Secondo l'autore, invece, si tratterebbe di una alterazione dell' equilibrio fisiologico degli elementi di questo strato di cellule, come si deve dedurre dal fatto che la presenza di *Penicillium* ripristina in esse la capacità di reagire.

Nel lavoro sono riportate altre constatazioni che stanno in appoggio di questa ipotesi.

SUMMARY

The A. describes some investigations on the formation of wound cork in pieces of potatoes treated with ultra violet rays and on the behaviour of the cicatrisation process in consequence of the growth, on the cut surface, of *Penicillium*.

The injurious effects of ultra violet rays are proportional to the time of the exposition of the tissues.

Penicillium induces some modifications in the depth of wound cork formation.

The results of various experiments permits to the A. to expose a hypothesis (different from that of Haberlandt) of the causes of the deep cicatrisation.

BIBLIOGRAFIA.

Benecke W., Jost L., *Pflanzenphysiologie.* Jena, 1924.

Bloch H., *Zum problem der Korkenstehung.* Ber. d. Deut. Bot. Ges.; 44, 316-329, 1926.

Brieger F., *Untersuchungen über den Wundreiz.* Ber. d. Deut. Bot. Ges.; 42, (79)-(90), 1924.

Ellis C., Wells A. A., *The chemical action of ultraviolet rays.* New York, 1925.

Gellhorn E., *Lehrbuch der allgemeinen Physiologie.* Leipzig, 1931.

Grafe V., *Chemie der Planzenzelle.* Berlin, 1922.

Krenke N. P., *Wundcompensation, Transplantation und Chimären bei Pflanzen.* Berlin, 1933.

Petri L., *Esperienze sulla formazione del sughero delle ferite.* Boll. R. Staz. Patol. Veg.; N. S., Anno IX, 327-352, 1929.

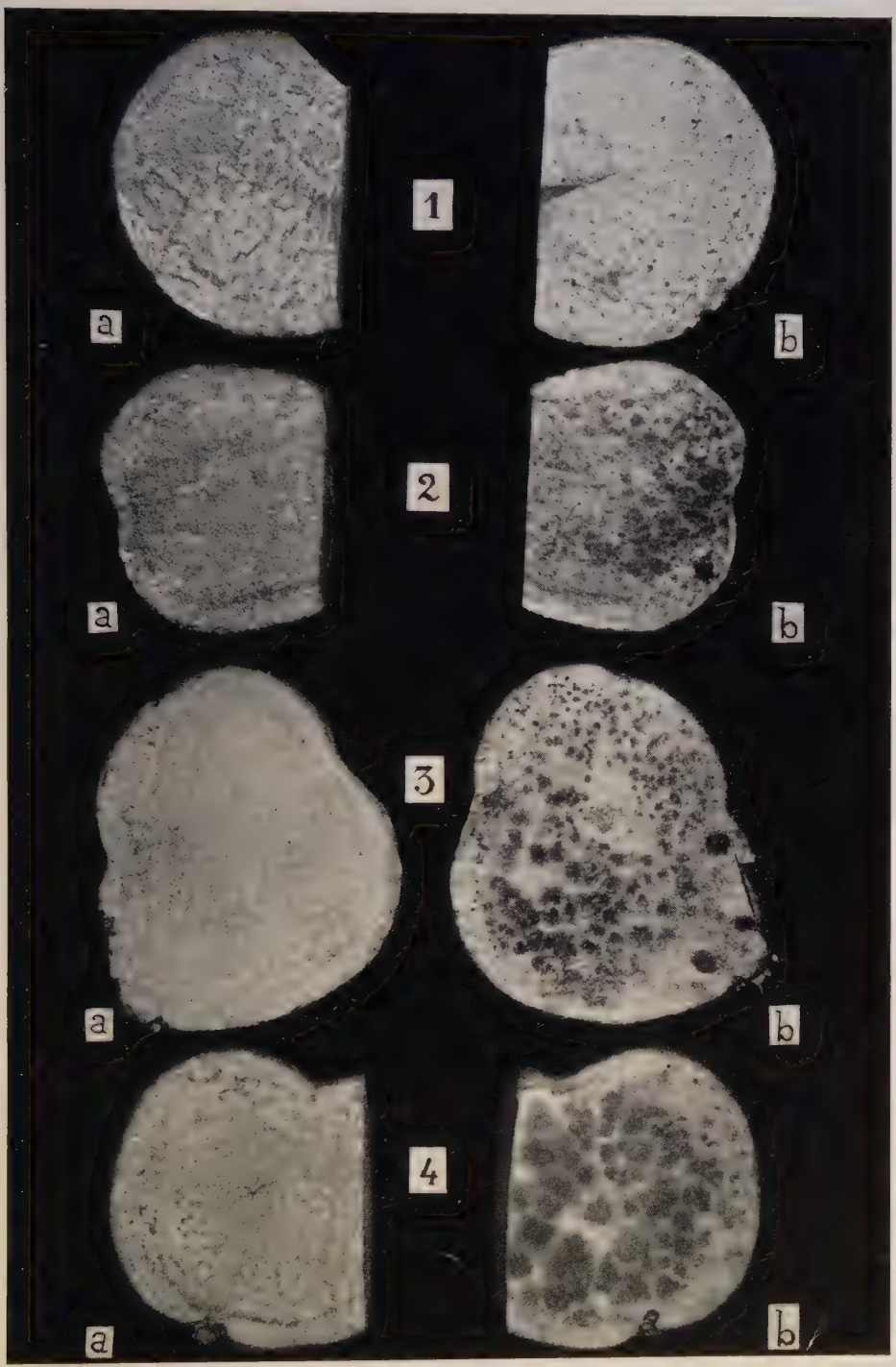
Pincussen L., *Photobiologie.* Leipzig, 1930.

Priestey J. H., Woffender L. M., *The healing of wounds in the potato tubers and their propagation by cut sets.* Ann. Appl. Biol.; 10, 96-115, 1923.

Reiche H., *Ueber Auslösung von Zellteilungen durch Injektion von Gewebesäften und Zelltrümmern.* Zeits. f. Bot.; 16, 241-278, 1924.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA XVI.

Sezioni di tuberi fotografate dopo 8 giorni dal taglio ed irradiazione. Subito dopo il trattamento, sulle superfici del taglio è stata portata una sospensione di conidi di *Penicillium*. Sui semituberi di controllo (*a*) e su quello irradiato per 15' (1*b*) non vi è alcuno sviluppo del fungo; l'accrescimento di questo è più rigoglioso man mano che aumenta la dose di irradiazione: 2 *b*, irradiazione per 30'; 3 *b*, irradiazione per 45'; 4 *b*, irradiazione per 60'.



Biraghi A. — *Esperienze sulla formazione di sughero ecc.*

Il mosaico della zucca

Nell'anno 1931 sono pervenute in esame a questa R. Stazione delle foglie di zucca che presentavano una maculatura di colore verde chiaro, diffusa irregolarmente sulle foglie e che sembrava molto simile al mosaico. Data la scarsezza del materiale e il suo stato poco buono di conservazione, non mi è stato possibile di poter fare uno studio completo su questa alterazione, per cui mi sono dovuto limitare al tentativo di riprodurre la malattia mediante l'inoculazione del succo prelevato dalle foglie malate, nelle foglie e nei fusti di piante sane. Con questa esperienza ho potuto stabilire che si trattava di una malattia infettiva, trasmissibile alle piante sane mediante l'inoculazione del succo estratto da materiale malato e precisamente del « Mosaico della zucca ». Poichè quest'anno sono stati notati diversi casi di Mosaico della zucca nei dintorni di Roma, ho potuto avere a mia disposizione abbondante materiale ed ho quindi potuto continuare le mie ricerche sopra questa alterazione.

Il Mosaico delle Cucurbitacee è stato ampiamente studiato da parecchi Autori, ed uno studio particolareggiato ne è stato fatto da Doolittle (1920) nel suo classico lavoro sulla malattia del Mosaico delle Cucurbitacee. Parlando della malattia del mosaico delle Cucurbitacee i vari autori si soffermano con maggiore ampiezza di dati sul Mosaico del cetriolo, del cocomero e del melone, mentre il Mosaico della zucca è trattato piuttosto sommariamente. Nel 1910 Clinton descrive un caso di clorosi della zucca a Westvill. Nel 1922 Elmer descrive i risultati di alcuni tentativi d'inoculazione col Mosaico di piante diverse fra cui anche il Mosaico della zucca. Nel 1925 lo stesso Autore afferma che il Mosaico della zucca può essere trasmesso dal *Pseudococcus maritimus* Ehr. alle

piante di tabacco, pomodoro, *Vigna catjang*. Anche nel Lavoro bibliografico delle malattie da *virus* delle piante, compilato da ATANASOFF (1934) sono citati pochi lavori

Fig. 1. — Foglia di zucca affetta da Mosaico che presenta alla superficie delle bollosità.

che trattino del mosaico della zucca. Per questa ragione e per il fatto che il Mosaico della zucca va in questi ultimi tempi diffondendosi in Italia, ho creduto opportuno di fermare l'attenzione su tale malattia e di studiarla con maggiore cura.

Fig. 2. — Foglia di zucca affetta da Mosaico, con bollosità, in uno stadio più avanzato di sviluppo. Si notano delle aree scure formate da tessuti necrosati.

Distribuzione geografica. — Circa la distribuzione geografica del Mosaico della zucca in Italia, finora si può dire ben poco. Si può solo affermare che questa malattia esiste nel Lazio e precisamente nei dintorni di Roma; nelle altre regioni italiane il Mosaico della zucca non è stato ancora segnalato. Ciò non significa però che questo non esista in tali regioni: probabilmente esso è diffuso in Italia ma è passato finora inosservato agli occhi dei coltivatori.

Sintomi esterni. — All'esterno i sintomi del Mosaico della zucca si manifestano particolarmente sulle foglie, e consistono in una variegatura delle foglie, le quali presentano numerose macchie di colore verde chiaro, disseminate nella parte rimasta normale che conserva il suo colore verde intenso. Le aree clorotiche sono irregolarmente distribuite sulle foglie e sono delimitate da un margine distinto. Nelle foglie più giovani, pur essendo ben visibile la variegatura, è tuttavia meno accentuato il contrasto fra le parti clorotiche e le parti sane delle foglie; nelle foglie più sviluppate invece questo contrasto è più marcato. I confini delle aree clorotiche sono per lo più rappresentati dalle nervature. Le foglie di zucca colpite da Mosaico possono essere piane e regolari in tutta la loro superficie, oppure possono presentare degli increspamenti e delle bollosità disseminate irregolarmente sulla lamina, in modo da dare a questa un aspetto ondulato, e quest'ultimo caso è rappresentato dalla fig. 1. Progredendo lo sviluppo delle foglie, le aree clorotiche vanno prendendo un colore verde giallastro. In alcuni casi ho notato che l'alterazione nelle foglie progredisce fino a disseccare completamente le aree clorotiche, in modo che la foglia presenta in più punti delle aree imbrunite formate da tessuti necrosati (fig. 2).

Sui fusti e sui picciuoli delle foglie delle piante di zucca malate di Mosaico, che ho potuto esaminare, mancava completamente qualsiasi sintomo di Mosaico. Così pure i frutti provenienti da piante di zucca mosaicate,

che ho potuto avere a mia disposizione, non differivano da quelli delle piante sane tenute per controllo che per il fatto di presentare una curvatura più accentuata e una leggera irregolarità nella forma. Sui frutti ottenuti da

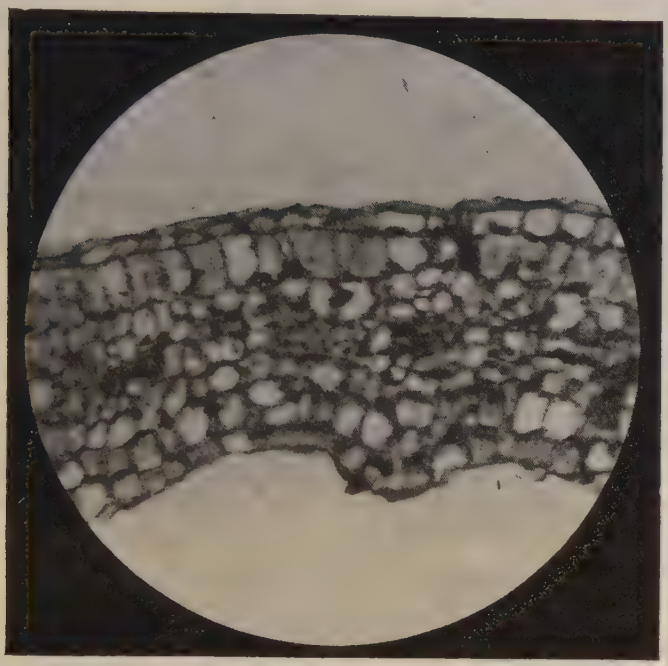


Fig. 3. — Sezione trasversale di una foglia di zucca mosaicata, condotta attraverso ad un'area clorotica.

piante di zucca malate di Mosaico non ho potuto notare nessun altro sintomo che potesse rivelare una malattia da *virus*.

In generale le piante di zucca malate di Mosaico si mostrano alquanto meno sviluppate delle piante normali, e tutta la pianta malata assume un aspetto sofferente, e ciò tanto maggiormente quanto più forte si presenta il Mosaico.

Caratteri istologici e citologici. — Per lo studio istologico e citologico delle foglie di zucca affètte da

Mosaico sono stati fissati dei pezzetti di foglia prelevati dalle aree clorotiche, e dei pezzetti prelevati dalle aree verdi. La tecnica adottata è stata quella seguìta da Hoggan per lo studio citologico delle malattie da *virus* delle *Solanacee*. Il materiale è stato fissato per 24 ore in un liquido composto da 100 parti di alcool a 50°, 6,5 parti di formalina e 2,5 parti di acido acetico glaciale. La colorazione dei preparati veniva fatta mediante una soluzione acquosa di Ematossilina Heidenhein al 0,5%, previo mordenziamento con una soluzione di allume ferrico ammoniacale al 2% ; la decolorazione dei preparati veniva poi eseguita con una soluzione di allume ferrico ammoniacale all'1%.

Dall'esame microscopico risalta subito la diversità di aspetto nella costituzione delle aree clorotiche e delle aree verdi. Innanzi a tutto lo spessore della lamina fogliare è minore nelle aree clorotiche che nelle aree verdi : nelle prime il valore dello spessore si aggira comunemente fra 100 μ e 130 μ, mentre nelle seconde oscilla fra 130 μ e 160 μ. Questa differenza nello spessore della lamina fogliare nelle diverse aree è dovuta ad uno sviluppo diverso degli elementi cellulari che compongono tali aree. Nelle aree clorotiche le cellule del tessuto a palizzata sono meno sviluppate nel senso della lunghezza che varia da 18 μ a 30 μ, mentre il loro diametro trasverso rimane inalterato e non di rado maggiore del normale. Per questa ragione le cellule delle aree clorotiche si mostrano più corte di quelle delle aree verdi, e spesso, nei casi estremi si presentano come cellule cubiche. Nelle aree verdi invece le cellule del tessuto a palizzata sono molto più sviluppate lungo il diametro longitudinale, che si aggira fra i valori di 30 μ e 45 μ, mentre il loro diametro trasversale è più corto di quello delle cellule delle aree clorotiche. Generalmente al centro delle aree clorotiche del tessuto a palizzata le cellule si presentano pressochè isodiametriche, però man mano si procede verso la parte verde della foglia, il diametro longitudinale delle cel-

lule aumenta: si hanno cioè tutte le forme di passaggio fra le cellule isodiametriche e le cellule maggiormente allungate. Le figure 3-5 mostrano chiaramente la differenza nella struttura istologica fra le foglie di zucca sane e

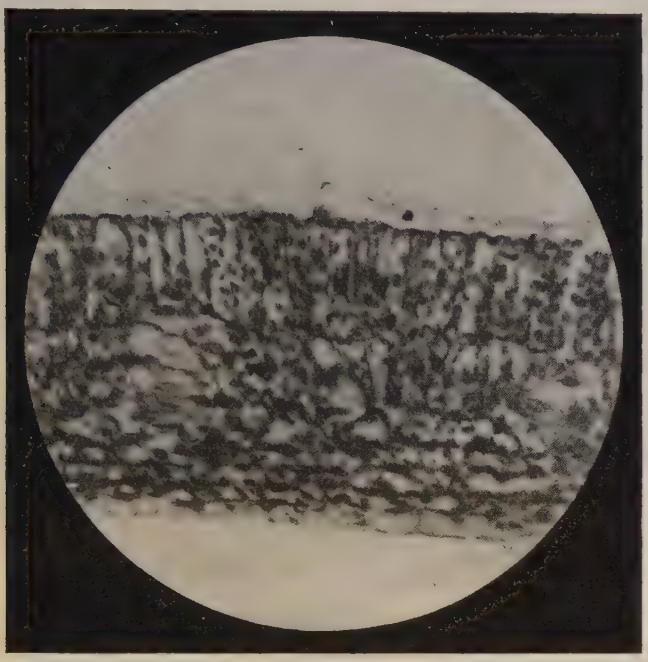


Fig. 4. — Sezione trasversale di una foglia di zucca mosaicata, condotta attraverso ad un'area verde.

quelle colpite dal Mosaico. Nella fig. 5, sezione di una foglia di zucca normale, si vedono le cellule del mesofillo unite lassamente fra di loro e spesso inframezzate da ampi spazi intercellulari. La fig. 3 rappresenta la sezione di una foglia in corrispondenza di un'area clorotica: le cellule del tessuto a palizzata si mostrano pressochè isodiametriche e così pure le cellule del tessuto spugnoso. In questa sezione si può notare l'assenza degli spazi intercellulari. La figura 4 rappresenta invece una

sezione di foglia mosaicata condotta in un'area verde: si notano le cellule del tessuto a palizzata allungate in modo anormale, e l'esiguità degli spazi intercellulari.

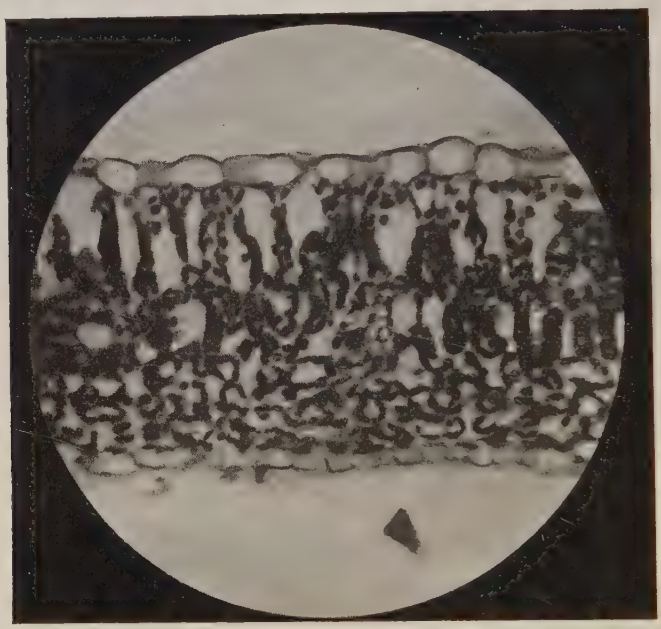


Fig. 5. — Sezione trasversale di una foglia di zucca sana.

La differenza nella struttura istologica delle aree clorotiche e delle aree verdi è stata osservata già da Woods nel 1902 e da Iwanowski nel 1903 nelle foglie di tabacco affètte da Mosaico. In un grande numero di piante affètte da Mosaico tale differenza di struttura rimane bene evidente ed è stata descritta da vari Autori: da Doolittle (1920) nelle Cucurbitacee, da Matsumoto (1922) nel *Phaseolus radiatus* var. *aurea* (Azuki bean), da Westerdijk (1910) (1) e da Sorokin (1927) nel pomodoro, da Heald (1934) per le varie forme di Mosaico della pa-

(1) Secondo Cook (1930).

tata, da Cook (1931) in uno studio comparativo sulle foglie di piante di canna da zucchero, canna d'India, tabacco, pomodoro e fagiolo dall'occhio (*Vigna sinensis*). In Italia Petri (1931) studiando la variegatura delle foglie nell'arancio amaro, ha notato uno sviluppo maggiore delle cellule del tessuto a palizzata nelle aree verdi che nelle aree clorotiche.

Concludendo si può dire che nelle foglie di zucca malate di Mosaico le aree clorotiche mostrano una ipoplasia delle cellule in confronto alle foglie normali mentre le aree verdi presentano una manifesta iperplasia delle cellule specialmente del tessuto a palizzata. Tanto nelle aree clorotiche quanto nelle aree verdi le cellule del mesofillo, sia quelle del tessuto a palizzata sia quelle del tessuto spugnoso, sono strettamente addossate le une alle altre; gli spazi intercellulari sono molto ridotti, e in certi casi possono scomparire totalmente, contrariamente a quanto avviene nelle foglie sane. Questi fatti sono stati pure notati da Dickson (1922) per diverse piante affètte da mosaico: tabacco, petunia, patata, giusquiamo, peperone, *Lathyrus odoratus*, fagiolo, fava, trifoglio, pisello e lampone.

Oltre la differenza nelle dimensioni e nella forma che presentano le cellule del tessuto a palizzata delle aree clorotiche e le cellule del tessuto a palizzata delle aree verdi, l'esame microscopico rivela pure una diversità nella costituzione interna delle cellule delle due aree. I cloroplasti del tessuto a palizzata delle aree clorotiche appaiono meno sviluppati di quelli delle aree verdi e la loro grandezza si aggira intorno ad un diametro di 3,7 μ; spesso presentano delle irregolarità nella loro forma e in molti casi sono talmente addossate alla parete cellulare che si scorgono appena come masserelle dense schiacciate. I cloroplasti nelle aree clorotiche si mostrano più pallidi, infatti rimangono debolmente colorati dalla ematossilina, e spesso presentano al loro interno come dei vacuoli. In alcuni casi le cellule delle aree clorotiche

si presentano riempite da un contenuto granuloso e denso, con pochissimi cloroplasti di dimensioni ridotte; in tali cellule i cloroplasti possono spesso mancare e così pure può mancare il nucleo (fig. 6). Nelle cellule del

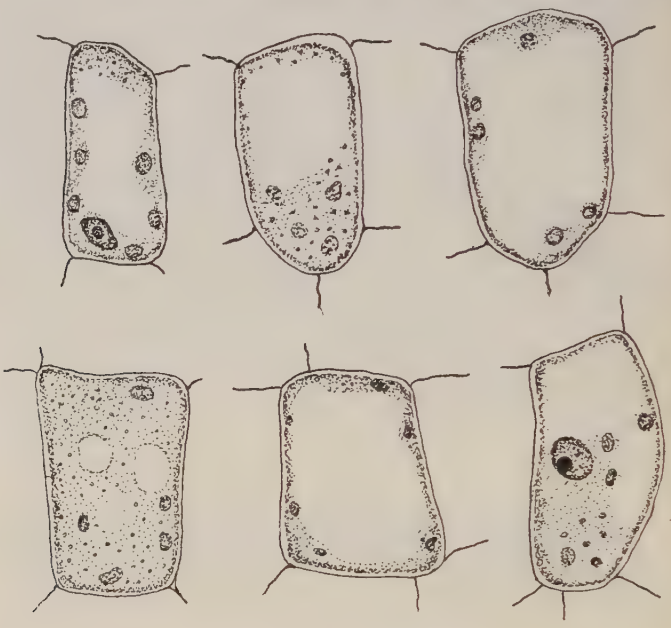


Fig. 6. — Cellule del tessuto a palizzata di un'area clorotica.

tessuto a palizzata delle aree verdi i cloroplasti sono intensamente colorati dall'ematossilina, si presentano più omogenei, la loro forma è più regolare e la loro grandezza oscilla intorno ad un valore medio di 5,6 μ di diametro. Queste cellule hanno un contenuto normale e nel loro interno sono presenti numerosi cloroplasti (fig. 7).

Mentre gli Autori che hanno studiato le malattie del Mosaico delle varie piante, sono d'accordo nella descrizione della diversità nella struttura istologica e citologica delle aree clorotiche e delle aree verdi delle foglie mosaicate, non sono affatto concordi nell'interpretazione del-

l'alterazione che colpisce i cloroplasti delle cellule situate nelle aree clorotiche. Gran parte degli Autori, cominciando già da Köning nel 1899, ritiene che l'alterazione subìta dai cloroplasti delle cellule delle aree clorotiche sia dovuto ad un processo degenerativo che questi subiscono o ad una disintegrazione dei costituenti proteici

Fig. 7. — Cellule del tessuto a palizzata di un'area verde.

dei cloroplasti (Sorokin, 1927), sotto l'azione del *virus* che si trova nelle cellule. Secondo altri Autori invece, fra cui Cook (1925) e Sheffield (1933) non si tratterebbe di una disintegrazione dei cloroplasti ma l'azione del *virus* si estrinsecherebbe in una inibizione dello sviluppo dei cloroplasti, per cui questi non sarebbero più in grado di raggiungere la loro grandezza normale. Quest'azione inibitrice sull'accrescimento dei cloroplasti avverrebbe soltanto nelle cellule che non hanno ancora raggiunto lo stadio adulto.

Nella malattia del Mosaico di diverse piante l'esame microscopico ha dimostrato nelle cellule delle aree alterate, la presenza dei cosidetti *corpi X, corpi intracellulari, corpi amceboidi* o *corpi vacuolati,* che si trovano per lo più vicino al nucleo o addirittura addossato ad esso, ma possono pure essere situati in altri punti della cellula. La loro forma può essere sferica, ellissoidale o ir-

regolare in modo da assumere spesso un aspetto ameboide, con appendici simili a pseudopodi. La loro struttura interna ricorda quella del protoplasma: essi possono avere una struttura granulare finissima, possono apparire cosparsi di vacuoli ed avere quindi un aspetto alveolare, ed è stata pure descritta una struttura fibrillare. Nell'interno dei corpi X oltre alla fine granulazione sono stati notati dei granuli più grossi e fortemente colorati, che sembra non abbiano alcuna relazione colle formazioni nucleari. Le inclusioni cellulari sono state osservate per la prima volta da Iwanowski nel 1903, nelle foglie di tabacco affètte da Mosaico, ed egli considerava queste formazioni ameboidi come un prodotto della reazione cellulare di fronte allo stimolo provocato dal *virus* presente nella pianta, ed escludeva che potessero essere organismi viventi. Nel 1910 Lyon (1) ha descritto dei piccoli corpi di forma sferica o irregolare nelle cellule delle galle formatesi nelle piante di canna da zucchero affètte dalla « Fiji disease ». In Italia le inclusioni cellulari sono state osservate e descritte da Petri nel 1912, nelle cellule del cambio di viti affètte da arricciamento. Queste formazioni che egli chiama *corpi d'escrezione*, sono corpi vacuolati di varia grandezza colorantisi coll'ematossilina, situati generalmente in vicinanza del nucleo, o talvolta aderenti allo strato parietale del citoplasma o anche situati in mezzo ad esso. Nel 1919 Matz osserva i corpi intracellulari nel mosaico della canna da zucchero. Nel 1921 Kunkel descrive dei corpi ameboidi nelle cellule delle piante di granoturco affètte da mosaico, e nel 1922 lo stesso Autore li trova nelle cellule delle foglie di *Hippeastrum equestre* colpite da mosaico. Mc Kinney, Eckerson e Webb nel 1923 descrivono i corpi intracellulari nella malattia della rosetta del grano e nel mosaico del grano. Nel 1924 K. M. Smith osserva i corpi ameboidi nel Mosaico della patata. Goldstein trova

(1) Secondo K. M. Smith (1933).

nel 1927 i corpi X nella *Dahlia* affètta da Mosaico. Nello stesso anno Schaffnit e Weber trovano i corpi intracellulari nelle cellule delle piante di barbabietola colpite da Mosaico. Un ampio studio sui corpi intracellulari nelle Solanacee affètte da Mosaico è stato condotto da Hoggan nel 1927. Nel 1928 Narasimhan osserva i corpi intracellulari nelle cellule del *Santalum album* L. colpito dalla *malattia della spiga* (Spike disease), e così pure nelle cellule della *Vinca rosea* L. colpita dalla stessa malattia. Sheffield e J. H. Smith descrivono nel 1930 i corpi X osservati nelle cellule di *Solanum nodiflorum*, affètte dal giallume e dal mosaico del tipo Aucuba. Nel 1931 Fukushi trova i corpi intracellulari nelle cellule di piante di riso affètte da nanismo (dwarf disease).

Dalle osservazioni di Kunkel sul Mosaico del granoturco risulta inoltre che i corpi X possono essere circondati da una sottile membrana che può essere messa in evidenza quando il contenuto di questi corpi si contrae in seguito all'azione degli acidi. Corpi intracellulari rivestiti da una membrana sono stati descritti pure da Woods nel 1933, in diverse Solanacee colpite dalla malattia delle macchie anulari (Ring spot). Il modo di formarsi dei corpi X è stato studiato da Sheffield (1931) in piante di *Solanum nigrum*, *S. nodiflorum*, *S. lycopersicum*, *Nicotiana tabacum* e *Hyosciamus niger*, infettate col Mosaico del tipo Aucuba. Nei primi stadi dell'infezione la corrente citoplasmatica contiene numerose minute particelle di proteine che sono trascinate dalla corrente nell'interno della cellula. Queste particelle poi si riuniscono per formare delle masse più grandi che sono trasportate passivamente e molto lentamente nella cellula, e che si fondono poi in maniera che tutto il materiale proteico è contenuto in uno od eccezionalmente in più masse granulose.

La maggior parte degli Autori è ormai concorde nel ritenere che i corpi X siano di natura protoplasmatica,

mentre invece regna una notevole divergenza di vedute riguardo al significato biologico di questi corpi. Infatti una parte degli Autori fra cui Lyon (1910), Kunkel (1921), Goldstein (1922), Mc Kinney, Eckerson, e Webb (1923), Sorokin (1927), Likithé (1929) ritiene che le inclusioni cellulari rappresentino o l'agente causale stesso della malattia, o siano intimamente connessi con questo. Gli altri Autori invece fra cui Iwanowski (1903), K. M. Smith (1924), F. F. Smith (1926), J. H. Smith (1930), Hoggan (1927), Sheffield (1931) riguardano i corpi intercellulari come un prodotto del citoplasma, dovuto all'azione del *virus*.

Nella malattia del Mosaico delle Cucurbitacee Doolittle non ha notato nelle cellule delle foglie malate la presenza di corpi intracellulari. Invece nel Mosaico della zucca qui descritto, è stato possibile di mettere in evidenza i corpi X in alcune cellule delle foglie malate. La presenza di questi corpi nelle cellule delle foglie di zucca infette è assai poco frequente, e per poterli identificare è stata necessaria un'osservazione lunga ed accurata. La presenza dei corpi intracellulari è stata notata nelle cellule del tessuto a palizzata e nelle cellule del tessuto spugnoso delle foglie infette, tanto nelle aree clorotiche quanto nelle aree verdi. Fin'ora non sono stati riscontrati i corpi intracellulari nelle cellule epidermiche delle foglie di zucca, ma non è escluso che ulteriori ricerche rivelino la loro presenza anche in queste cellule.

I corpi X osservati nelle foglie di zucca hanno una struttura finemente granulare e per lo più contengono diversi vacuoli come si vede nella figura 8. Questi corpi sono quasi sempre addossati al nucleo o sono immediatamente vicini ad esso, però in alcuni casi si possono trovare ad una certa distanza dal nucleo come lo dimostra la fig. 8, c. In alcuni casi i corpi X possono contenere dei granuli più grossi fortemente colorati in scuro dall'ematossilina : questi granuli possono trovarsi tanto nei corpi privi di vacuoli quanto in quelli vacuolati. La for-

ma dei corpi X trovati nel Mosaico della zucca, è generalmente sferica od ellittica (Tav. XVII, figg. 1, 2, 3); sono state osservate pure delle cellule in cui il corpo X si presentava di forma irregolare, e quest'ultimo caso è rappresentato dalla fig. 4 della Tav. XVII. Qui il corpo X si presenta sotto forma ameboide, allungato, addossato

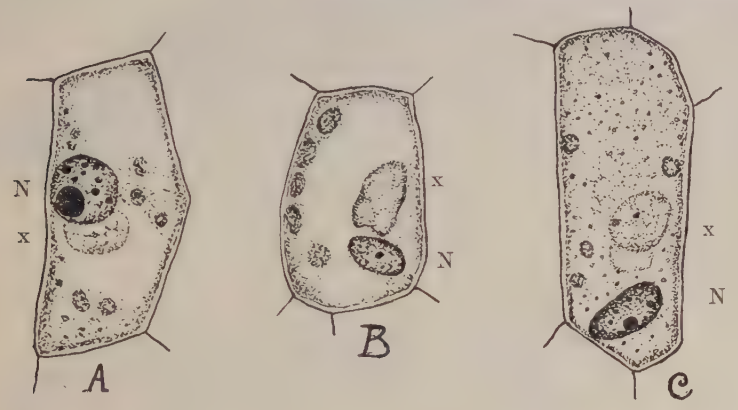


Fig. 8. — Cellule del tessuto a palizzata di una foglia di zucca colpita da Mosaico, presentanti al loro intorno dei corpi X (x). N = nucleo.

al nucleo: la sua struttura è nettamente vacuolare e oltre ai vacuoli si scorgono all'interno del corpo diversi granuli scuri di varia grandezza. Il corpo X qui descritto presenta una grande analogia col corpo X rappresentato dalla Fig. 1 della Tav. III del lavoro di Holmes (1928) sulla citologia dell'*Hippeastrum* affètto da Mosaico: in questa figura si vede il corpo X addossato al nucleo e di forma ameboide, allungato e presenta al suo interno numerosi granuli fortemente colorati in scuro che l'Autore ritiene siano dei raggruppamenti di condriosomi. Le dimensioni dei corpi X osservati nel Mosaico della zucca si mantengono intorno ai valori di 3,5 μ, 4,5 μ, 5,5 μ, 7 μ, 9 μ, 11μ.

Trasmissione sperimentale del mosaico. — È noto che le malattie da *virus* si possono trasmettere in vari

modi, e precisamente: 1) mediante il succo; 2) mediante l'innesto; 3) mediante il polline; 4) mediante il seme; 5) mediante insetti. Per studiare la trasmissibilità del Mosaico della zucca ho adottato i seguenti tre metodi: trasmissione col succo, trasmissione col seme, trasmissione per mezzo di insetti e precisamente per mezzo degli Afidi.

Trasmissione mediante il succo. — L'infezione delle piante sane avveniva o direttamente, strofinando le foglie sane con tessuti infetti frantumati, oppure introducendo il succo contenente il *virus* nelle piante sane. Questo succo infetto veniva introdotto nelle piante sane mediante aghi a lancetta, o inoculato mediante una siringa o infine mediante tubi capillari di vetro. Le inoculazioni sono state eseguite nelle foglie, specialmente lungo le nervature, nei picciuoli e nei fusti. Per l'estrazione del succo il materiale (foglie e picciuoli) è stato accuratamente lavato con acqua distillata bollita, ridotto in pezzetti e posto in una piccola pressa di acciaio (1), mediante la quale si poteva ottenere una quantità discreta di succo, da materiale relativamente scarso. Il succo così ottenuto veniva prima fatto passare attraverso un filtro di cotone, per liberarlo dalle impurità più grossolane, e veniva quindi sottoposto ad una seconda filtrazione attraverso carta bibula. I vari metodi d'inoculazione qui descritti hanno dato risultato positivo e cioè tutte le piante trattate con uno di questi metodi, hanno mostrato segni evidenti di Mosaico circa tre settimane dopo il trattamento (Figure 9, 10).

Trasmissione mediante semi. — Per vedere se la forma di Mosaico della zucca riscontrata in Italia fosse eventualmente trasmissibile mediante i semi, sono stati seminati in terra 100 semi di zucca provenienti da frutti nati da piante malate. Le piante sorte da tali semi so-

(1) Petri L., *Micropressa per l'estrazione di succhi da tessuti freschi.* « Boll. R. Stazione Pat. Veg. » XIV, pagg. 254-255, 1934.

no rimaste esenti da qualsiasi sintomo di Mosaico. Anche per questo fatto il Mosaico della zucca descritto nella presente nota, sembra simile a quello descritto da

Fig. 9. — Foglia di zucca colpita da Mosaico
in seguito ad inoculazione con succo contenente il *virus*.

Doolittle (1920) in America: pure questo Autore afferma che il Mosaico della zucca generalmente non si trasmette mediante i semi o si trasmette solo in casi eccezionali.

Trasmissione mediante Afidi. — Alcuni Afidi appartenenti al genere *Aphis gossypii* sicuramente sani, sono stati tenuti per alcuni giorni su piante di zucca mosaicate poste in gabbie colle pareti di garza a maglie fittissime,

Fig. 10. — Porzione di foglia di zucca infettata artificialmente.

per cui era evitato il pericolo che vi potessero penetrare altri insetti dall'esterno. Gli Afidi che si erano nutriti delle foglie infette, e che contenevano quindi nel loro corpo il *virus* del Mosaico, sono stati posti sopra piante sane tenute pure in gabbie isolate, con pareti di garza.

Dopo un periodo di tempo variabile da 20 a 30 giorni le piante in esperimento presentavano i primi sintomi del Mosaico.

In base a queste esperienze di trasmissione artificiale del Mosaico della zucca, risulta chiaramente che questa malattia si trasmette con facilità mediante il succo, dalle piante malate alle piante sane e così pure mediante gli Afidi, mentre la trasmissione della malattia mediante i semi si può considerare nulla o di entità trascurabile.

Trasmissione della malattia in natura. — Il Mosaico della zucca, come tutte le altre malattie del Mosaico delle piante, si trasmette in natura quando il succo contenente il *virus* possa in qualche modo penetrare all'interno dei tessuti di una pianta sana. La condizione necessaria per la penetrazione del *virus* nella pianta sana è costituita dalla presenza di una soluzione di continuità nel tessuto epidermico, attraverso la quale il *virus* può diffondersi nei tessuti sottostanti e quindi infettare tutta la pianta. In una piantagione di zucca è molto facile che si formino delle soluzioni di continuità nei tessuti protettori delle piante, sotto forma di lesioni o di ferite prodotte da cause svariatissime: da agenti atmosferici, da animali superiori, dall'uomo stesso e dagli insetti. Il modo più semplice di trasmissione è quello diretto da pianta a pianta, e ciò avviene quando un organo leso o ferito di una pianta malata venga in contatto con un organo pure leso o ferito di una pianta sana. In questo modo le due superfici di ferita segnano la via attraverso la quale il *virus* passa dalla pianta malata a quella sana. Anche l'uomo può in vari casi concorrere alla diffusione del Mosaico, poichè basta toccare una pianta sana subito dopo avere toccato una pianta malata, perchè la prima possa essere infettata; questo modo d'infezione si verifica spesso alla raccolta dei frutti, e specialmente quando viene adoperato il medesimo coltello per le piante sane e per quelle malate.

Il modo di trasmissione più comune, e nello stesso tempo il più diffuso, del Mosaico della zucca in natura è quello che avviene per opera degli insetti. Il ciclo di questa infezione è molto semplice e può essere rappresentato dallo schema seguente:

Sorgente d'infezione ⇒ Insetto vettore ⇒ Pianta sana

La sorgente dell'infezione è costituita sempre dalla pianta malata, sia da una pianta di zucca mosaicata, sia da qualche altra pianta, affètta dalla medesima malattia e contenente quindi il medesimo *virus*. Gli insetti che si sono nutriti su una pianta malata contengono nel loro corpo il *virus* del Mosaico. Dopo un certo tempo di permanenza del *virus* nel corpo degli insetti questi diventano viruliferi, ossia sono capaci d'infettare una pianta sana pungendo o mordendo l'epidermide in un punto qualsiasi, e facendo così passare e diffondere il *virus* nell'interno della pianta. Rimane quindi evidente che anche la presenza di una sola pianta di zucca mosaicata in un campo possa costituire un continuo e serio pericolo per il dilagare dell'infezione. Il coefficiente maggiore della gravità delle infezioni di Mosaico è dato dalla quantità di insetti presenti nel campo, e quindi si comprende facilmente come nelle annate in cui si verifichi una forte invasione di insetti vettori del Mosaico nelle piantagioni di zucca, anche questa malattia si diffonda rapidamente e cagioni gravi danni.

Doolittle nel 1920, e assieme a Walker nel 1925, cita i seguenti insetti quali trasmettitori del Mosaico delle Cucurbitacee: fra gli Afidi l'*Aphis gossypii*, e fra i coleotteri la *Diabrotica vittata* e la *Diabrotica duodecimpunctata*. Sulle piante di zucca malate di Mosaico ho notato un grande numero di Afidi appartenenti alla specie *Aphis gossypii* (1), che ho ritenuto quali cause

(1) La specie è stata determinata dal chiar.mo prof. F. Silvestri.

dell' infezione. Le esperienze sulla trasmissibilità del Mosaico mediante gli Afidi appartenenti alla specie *Aphis gossypii* hanno dimostrato che questi insetti possono essere riguardati i trasmettitori del mosaico della zucca in natura. Un esemplare di *Aphis gossypii*

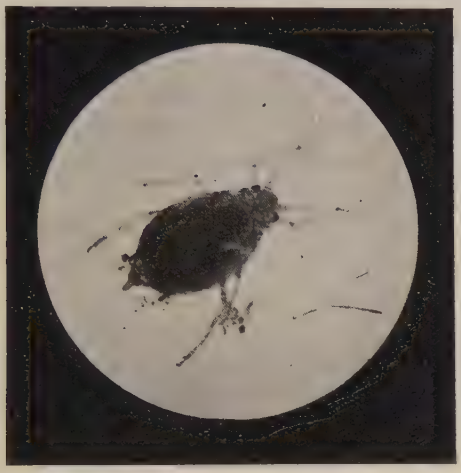


Fig. 11. — Esemplare dell'Afide *Aphis gossypii*, che trasmette in natura il Mosaico della zucca.

è rappresentato dalla fig. 11. Sulle piante di zucca colpite da Mosaico non è stata riscontrata, almeno in queste ricerche, la presenza di altri insetti a cui si potesse attribuire la diffusione della malattia.

Mezzi di lotta. — Conosciuti i modi di trasmissione in natura del Mosaico della zucca, si possono di conseguenza indicare i provvedimenti atti a prevenire o almeno a limitare la diffusione della malattia e quindi dei danni che essa arreca alle coltivazioni. La prima precauzione che si deve prendere è la soppressione delle sorgenti d'infezione: si dovranno quindi asportare dalle piantagioni e distruggere tutte le piante malate di Mosaico, fin dalla prima comparsa dei sintomi. In seguito si dovranno fare delle ispezioni periodiche nei cam-

pi e distruggere le piante infette man mano che la malattia fa la sua comparsa. Si deve inoltre badare che le piante non vengano a contatto l'una con l'altra, per evitare che alcune piante apparentemente sane, che contengono cioè nel loro interno il *virus* senza mostrare all'esterno i sintomi della malattia, possano infettare le altre. Per questa ragione sarà bene lasciare una conveniente distanza fra pianta e pianta, e, qualora fosse possibile, recidere i fusti striscianti troppo sviluppati, prima che questi raggiungano le piante vicine, avendo cura di sterilizzare alla fiamma le forbici ogni volta che si passa da una pianta all'altra.

È pure da raccomandarsi un'accurata pulizia delle piantagioni, estirpando tutte le piante spontanee che vi si trovino, perchè non è escluso che alcune di queste possano albergare il *virus* del Mosaico, e che lasciate sul posto conservino inalterato il *virus* fino alla primavera seguente. È quindi molto facile che seminando le zucche nel terreno in cui si trovino ancora le piante spontanee mosaicate, queste propaghino l'infezione alle piante di zucca. Anche Doolittle e Walker (1926) raccomandano la distruzione di tutte le piante spontanee che contengono il *virus* del Mosaico delle Cucurbitacee, e in particolare la distruzione del cetriolo selvatico (*Micrampelis lobata*) che in America ospita il virus del Mosaico del cetriolo durante l'inverno, e quindi trasmette l'infezione nella primavera successiva.

Per la semina si dovranno usare le varietà di zucca che durante il susseguirsi delle colture si sono dimostrate immuni o maggiormente resistenti al Mosaico, e scartare in modo assoluto le varietà più soggette alla malattia. Anzi a questo proposito verranno istituite delle esperienze per stabilire quali siano le varietà di zucca nostrali che si mostrano più altamente resistenti al Mosaico.

Rimane ora da trattare della lotta contro gli insetti vettori, che nel Mosaico della zucca, come s'è visto, sono

gli Afidi. Questi insetti rappresentano il mezzo più rapido e più pericoloso d'infezione, poichè è noto che questa si può estendere fino a dove possono arrivare gli Afidi. La lotta contro il Mosaico della zucca deve essere quindi basata principalmente sulla lotta contro gli Afidi, poichè solo colla scomparsa di questi insetti si potranno salvare le piantagioni di zucca dai danni che causa il Mosaico. Qualora si tratti di piante coltivate in serra la riuscita della lotta sarà sicura se si praticheranno frequenti fumigazioni degli ambienti, ad intervalli regolari e se si avrà l'avvertenza di distruggere tutte le piante affette da Mosaico e tutte le piante sospette. Quando si tratti invece di colture all'aperto, la lotta contro gli Afidi riesce molto difficile se non addirittura impossibile, perchè se i trattamenti con insetticidi sono possibili in un campo limitato, non saranno certamente convenienti, sia materialmente sia economicamente, in piantagioni estese, e d'altra parte può bastare un solo Afide per trasmettere l'infezione a molte piante. Nelle grandi piantagioni di zucca quindi le sole misure precauzionali che si potranno adottare, saranno lo scegliere per le colture i terreni situati in luoghi non frequentati affatto, se è possibile, o almeno poco visitati dagli Afidi e l'adottare per la semina le varietà di zucca che sembrano meno gradite agli Afidi.

CONCLUSIONI

1. — In colture di zucche situate nei dintorni di Roma è stata notata la malattia del Mosaico, caratterizzata dalla variegatura delle foglie, che presentano numerose macchie di colore verde giallastro risaltanti nettamente sullo sfondo verde normale della foglia. Spesso la variegatura è accompagnata dalla bollosità delle foglie.

2. — Le aree clorotiche delle foglie hanno uno spessore che oscilla fra i 100 μ e i 130 μ, mentre quello delle aree verdi oscilla fra 130 μ e 150 μ.

3. — Nelle aree clorotiche le cellule del tessuto a palizzata sono quasi isodiametriche e la loro lunghezza è compresa fra 18 μ e 30 μ, invece nelle aree verdi queste cellule sono molto allungate e sottili e misurano da 30 μ a 45 μ di lunghezza.

4. — Le cellule delle aree clorotiche contengono pochi cloroplasti le cui dimensioni sono minori di quelli normali (valore medio 3,7 μ); spesso in queste cellule mancano completamente i cloroplasti e talvolta pure il nucleo. Le cellule delle aree verdi contengono numerosi cloroplasti di dimensione media di 5,6 μ.

5. — Tanto nelle aree clorotiche quanto nelle aree verdi delle foglie malate, le cellule del mesofillo sono strettamente addossate le une alle altre e presentano gli spazi intercellulari molto ridotti.

6. — Nelle cellule del mesofillo delle foglie malate, tanto nelle aree clorotiche quanto nelle aree verdi, sono stati trovati i corpi X, sotto forma di masserelle vacuolate situate vicino al nucleo.

7. — Sperimentalmente la malattia è stata trasmessa mediante l'inoculazione del succo mosaicato e mediante gli Afidi, mentre non si è potuta trasmettere mediante il seme.

8. — In natura la malattia viene diffusa da Afidi appartenenti alla specie *Aphis gossypii*.

9. — La lotta contro il Mosaico della zucca si deve basare sulla semina di varietà resistenti e sulla difesa delle piante di fronte agli Afidi.

R. Gigante.

SUMMARY

1. — In cultivations of cucurbits in the surroundings of Rome the Mosaic disease has been observed. It's characters consist in mottling of the leaves that often is accompanied also by wrinkling.

2. — The chlorotic areas of the leaves are 100-130 μ thick and the green areas 130-150 μ.

3. — In the chlorotic areas the cells of the palisade tissue are almost isodiametric and their lenght lies between 18 μ and 30 μ, in the green areas these cells are slender and 30-45 μ long.

4. — The cells of the chlorotic areas contain few chloroplasts, smaller than the normal ones (3,7 μ in average); in these cells the chloroplasts and the nucleus are often quite absent. The cells of the green areas contain many chloroplast which size is in average 5,6 μ.

5. — Both in the green and in the chlorotic areas of the diseased leaves the mesophyll cells are closely bound one to the other and the other and the intercellular spaces are greatly reduced.

6. — In the mesophyll cells of the diseased leaves, in the green and in the chlorotic areas, X bodies have been found, appearing as small vacuolated particles near the nucleus.

7. — The disease has been experimentally transmitted inoculating mosaicated juice and by means of Aphidis, but it has been impossible to transmit it by seed.

8. — The disease is spread in nature by Aphids (*Aphis gossypii*).

9. — Cucurbits Mosaic control must be based on the use of resistent varieties and on a protection of the plants against Aphids.

BIBLIOGRAFIA

Atanosoff D., *Virus diseases of plants. A bibliography.* Sofia, 1934.

Baur E., *Zur Aetiologie der infektiösen Panaschierung.* « Ber. Deutsch. Bot. Gesellsch. »; XXII, 453-460, 1904.

Clinton G. P., *Notes on plant diseases of Connecticut.* « Conn. Agric. Exp. Stat.; Rep. for 1909-1910 ». 713-744 (735), 1910.

Clinton G. P., *Chlorosis of plants with special reference to calico of tobacco.* « Conn. Agric. Exp. Stat. Rep. for 1914 ». 1915.

Cook M. T., *Histology and cytology of Sugar-cane mosaic.* « Journ. Dept. Agric. Porto Rico »; IX, 5-27, 1925. (Sunto in « Rev. Appl. Mycol. »; V, 387-388, 1926).

Cook M. T., *The effect of mosaic on the cell content of the plant cell.* « Journ. Dept. Agric. Porto Rico »; X, 229-238, 1926.

Cook M. T., *Some effects of mosaic on the content of the cell.* « Phytopathology »; XVII, 57, 1927.

Cook M. T., *The effect of some mosaic diseases on cell structur and on the chloroplasts.* « Journ. Dept. Agric. Porto Rico »; XIV, 69-101, 1930.

Cook M. T., *The effect of mosaic on cell structure and chloroplasts.* « Journ. Dept. Agric. Porto Rico »; XV, 177-181, 1931.

Dickson B. T., *Studies concerning mosaic diseases.* « Macdonald College, Canada Tech. Bull. »; 2, 1922. (Sunto in « Rev. Appl. Mycol. »; I, 392, 1922).

Doolittle S. P., *The mosaic disease of Cucurbits.* « Un. Stat. Dept. of Agric. Bull. »; n. 879, 1920.

Doolittle S. P., *Control of Cucumber mosaic in the greenhouse.* « Un. Stat. Dept. of Agric. », Dept. Circ. 321, 1924.

Doolittle S. P., & Mc Kinney H. H., *Intracellular bodies in the phloem tissue of certain plants and their bearing to the mosaic problem.* « Phytopathology »; XII, 326-329, 1923.

Doolittle S. P., & Walker M. N., *Further studies on the overwintering and dissemination of cucurbit mosaic.* « Journ. of Agric. Res. »; XXXI, 1-58, 1925.

Doolittle S. P. & Walker *M.* N., *Control of Cucumber mosaic by eradication of wild host plants.* « Un. Stat. Dept. of Agric. » Dept. Bull. n. 1461, 1926.

Dufrenoy J., *Etudes citologiques relatives aux maladies à virus.* « Phytopathol. Zeitschr. »; I, 151-166, 1930.

Dunlap A. A., *Effects of mosaic upon the chlorophyll content of tobacco.* « Phytopathology »; XVIII, 697-700, 1928.

Elmer O. H., *Mosaic cross-inoculation and insect transmission studies.* « Science », N. S., LVI, 370-372, 1922. (Sunto in « Rev. Appl. Mycol. »; II, 21-22, 1923).

Elmer O. H., *Transmissibility an patological effects of the mosaic disease.* « Iowa Agric. Exp. Stat. Bull. »; 82, 39-91, 1925. (Sunto in « Rev. Appl. Mycol. »; IV, 754-755, 1925).

Fukushi T., *On the intracellular bodies associated with the dwarf disease of Rice plant.* « Trans. Sapporo Nat. Hist. Soc. »; XII, 35-4L, 1931. (Sunto in « Rev. Appl. Mycol. »; XI, 324, 1932).

Goldstein B., *Cytological study of living cells of Tobacco plants affected with mosaic disease.* « Bull. Torrey Bot. Club. », LI, 261-274, 1924. (Sunto in « Rev. Appl. Mycol. »; IV, 47-48, 1925).

Goldstein B., *A cytological study of leaves and growing points of healty and mosaic diseased tobacco plants.* « Bull. Torrey Bot. Club »; LIII, 499-599, 1926. (Sunto in « Rev. Appl. Mycol. »; VI, 260-261, 1927).

Goldstein B., *The X-bodies in the cells of Dahlia plants affected with mosaic disease and dwarf.* « Bull. Torrey Bot. Club »; LIV, 285-293, 1927. (Sunto in « Rev. Appl. Mycol. »; VI, 557, 1927).

Heald F. D., *Manual of plant disease.* New York & London, 1933.

Hoggan I. A., *Cytological studies on Virus diseases of Solanaceous plants.* « Journ. of Agric. Res. »; XXXV, 651-671, 1927.

Holmes F. O., *Cytological study of the intracellular body characteristic of Hippeastrum mosaic.* « Contrib. from Boyce Thompson Inst. »; I, 414-422, 1928.

Köning C. J., *Die Flecken-oder Mosaikkrankheit des holländischen Tabaks.* « Zeitschr. f. Pflanzenkr. »; IX, 65-80, 1899.

Kunkel L. O., *A possible causative agent for the mosaic disease of corn.* « Bull. Exp. Stat. Hawaiian Sugar Planters' Assoc. ». (Bot. Ser.); III, 44-58, 1921. (Sunto in « Rev. Appl. Mycol. »; I, 194-195, 1922).

Kunkel L. O., *Ameboid bodies associated with Hippeastrum mosaic.* « Science»; LV, 73, 1922. (Sunto in « Rev. Appl. Mycol. »; I, 195, 1922).

Kunkel L. O., *Further studies on the intracellular bodies associated with certain mosaic diseases.* «Bull. Exp. Stat. Hawaiian Sugar Planters' Assoc. ». (Bot. Ser.); III, 108-114, 124. (Sunto in « Rev. Appl. Mycol. »; III, 598, 1924).

Kunkel L. O., *Histological and cytological studies on the Fiji disease of Sugar cane.* « Bull. Exp. Stat. Hawaiian Sugar Planters' Assoc. » (Bot. Ser.); III, 99-107, 1924. (Sunto in « Rev. Appl. Mycol. »; III, 606-607, 1924).

Likhité V., *The nature and relations of the intracellular inclusions present in the mosaic of tobacco.* « Meded. Landbouwhoogesch. Wageningen »; 33 (1), 1-30, 1929.

Likhité V., *Cytological aspects of the virus diseases in plants.* « Meded. Landbouwhoogesch. Wageningen »; 33 (2), 1-12, 1929.

Matsumoto T., *Some experiments with Azuki-Bean Mosaic.* « Phytopathology »; XII, 295-297, 1922.

Matz J., *Infection and nature of the yellow stripe disease of sugar cane.* « Journ. Dept. Agric. Porto Rico »; III, 65-82, 1919. (Sunto in « Exp. Stat. Rec. »; XLIV, 846, 1921).

Mc Kinney H. H., Eckerson S. H. & Webb R. W., *The intracellular bodies associated with the rosette disease and a mosaiclike leaf mottling of wheat.* « Journ. of Agric. Res. »; XXVI, 605-608, 1923.

Rawlins T. E., & Johnson J., *Cytological studies of the mosaic disease of tobacco.* « Amer. Journ. of Bot. »; XII, 19-32, 1925. (Sunto in « Rev. Appl. Mycol. »; IV, 362-364, 1925).

*

Schaffnit E. & Weber H., *Uber das Vorkommen von intrazellularen Körpern in den Geweben mosaikkranker Rüben.* « Forsch. a. d. Geb. Pflanzenkr. u. Immun. in Pflanzenreich »; 4 Heft, 23-42, 1927.

Sheffield F. M. & Smith J. H., *Intracellular bodies in plant virus diseases.* « Nature »; CXXV, 200, 1930. (Sunto in « Rev. Appl. Mycol. »; IX, 538-539, 1930).

Sheffield F. M. L., *The formation of intracellular inclusions in Solanaceous hosts infected with aucuba mosaic of tomato.* « Ann. Appl. Biol. »; XVIII, 471-490, 1931.

Sheffield F. M. L., *The development of assimilatory tissue in Solanaceous hosts infected with Aucuba mosaic of tomato.* « Ann. Appl. Biol. »; XX, 57-69, 1933.

Smith J. H., *Virus diseases in plants. I, Translocation within the plant. II, The ameboid intracellular inclusions.* « Biol. Rev. »; V, 159, 1930. (Sunto in « Rev. Appl. Mycol. »; IX, 539 - 540, 1930).

Smith K. M., *On a curious effect of mosaic disease upon the cells of the potato leaf.* « Ann. of Bot. »; XXXVIII, 385-388, 1924. (Sunto in Rev. Appl. Mycol. »; III, 538, 1924).

Smith K. M., *Recent advances in the study of plant viruses.* London, 1933.

Sorokin H., *Phenomena associated with the destruction of the chloroplasts in tomato mosaic.* « Phytopathology »; XVII, 363-379, 1927.

Woods A. F., *Observations on the Mosaic disease of Tobacco.* « U. S. Dept. Agr. Bur. Pl. Ind. »; Bull. 18, 1902.

Woods M. W., *Intracellular bodies associated with ring spot.* « Contrib. Boyce Thompson Inst. »; V, 419-434, 1933.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA XVII.

Fig. 1. — Il corpo X (X) si trova in una cellula del tessuto a palizzata di un'area clorotica. N=nucleo.

Fig. 2. — Il corpo X (X) si trova in una cellula del tessuto spugnoso di un'area clorotica. N=nucleo.

Fig. 3. — Il corpo X (X) si trova in una cellula del tessuto a palizzata di un'area verde. N=nucleo.

Fig. 4. — Il corpo X (X) si trova in una cellula del tessuto spugnoso di un'area clorotica. N=nucleo.

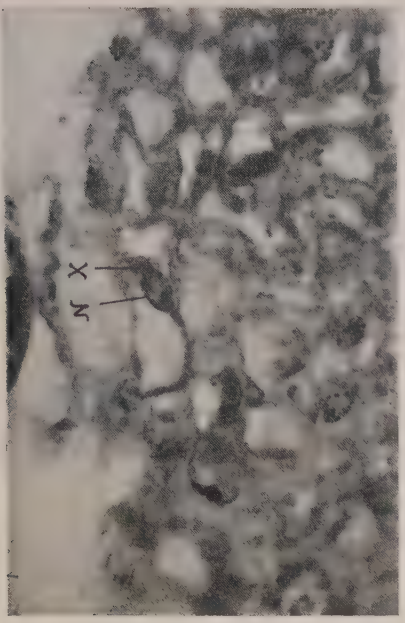


Fig. 2.

Fig. 4.

Fig. 1.

Fig. 3.

La leptonecrosi dei ciliegi e degli albicocchi

In questi ultimi anni le ricerche fatte per scoprire le cause dei deperimenti improvvisi degli alberi da frutta (deperimenti che compaiono con una certa frequenza e gravità in varie parti d'Italia), hanno dimostrato che in parecchi casi la malattia è dovuta ad una alterazione del floema e del cambio (1).

È necessario tener ben presente che in tali casi ci troviamo di fronte a delle malattie a se stanti che, seppure ancora incerte nella loro eziologia, hanno caratteri ben definiti che permettono di distinguerle da altre, con cui vanno spesso confuse, e in cui i sintomi presentati dalle piante ammalate sono, seppure assai simili, di tutt'altra natura. Non è per la verità molto agevole poter sempre distinguere dall'aspetto esterno ed in certi casi anche da quello interno, se gli alberi deperienti sono in tali condizioni o per effetto, ad esempio, del freddo o per marciume radicale o per attacchi di alcuni funghi o per altre cause comuni, oppure perchè affetti dalla malattia caratterizzata dalla necrosi del libro o del cambio: in ogni caso è necessaria una osservazione tutt'altro che superficiale per poter diagnosticare in un senso o in un altro.

Indubbiamente ha anche favorito la confusione che regna su questo argomento il nome stesso che si è dato a tutte queste malattie: e cioè di « deperimento »; nome che logicamente può essere adattato a tutte le condizioni patologiche delle piante siano esse di origine parassitaria, o no. Tal fatto ha permesso di abbracciare in una unica denominazione malattie disparate, cosa che è un

(1) O meglio, per essere più precisi, l'alterazione di questi tessuti è la manifestazione patologica più appariscente che si rileva nelle piante ammalate.

vero errore nei riguardi dell'esattezza scientifica ed anche un grave inconveniente per lo studio delle malattie stesse. Naturalmente sino a che la causa specifica di un dato deperimento non sia ben definita, l'esattezza scientifica della denominazione del fenomeno patologico, che si riassume nel deperimento stesso, non potrà pretendersi, ma si dovrà almeno definire meglio la natura di quest'ultimo con l'indicazione del fatto patologico più saliente che lo caratterizza.

In tale maniera si eviterà che i consigli che si possono o si potranno dare per combattere determinate malattie vengano applicati erroneamente anche per altre (per le quali anche se non sono dannosi, non produrrebbero di certo giovamento alcuno) col duplice danno di un inutile spreco e della sfiducia, inevitabile, sull'utilità degli interventi consigliati anche per quei casi in cui avrebbero invece un esito felice.

***

In Italia sono state per ora studiate le cause dei deperimenti dei susini (1) (2), dei peri e dei meli (3), e dei ciliegi (4). In questa nota descriverò per la prima volta un caso di deperimento degli albicocchi (che si vedrà, riferibile a leptonecrosi) che io ho osservato nel bolognese nel 1934.

I fenomeni patologici che si verificano nei susini sono abbastanza simili a quelli che si riscontrano nei peri e

---

(1) Goidànich G., *Un deperimento dei Susini.* « Boll. R. Staz. Pat. Veg. », n. s., XIII, 1933, pp. 160-173.

(2) Goidànich G., *Ricerche sul « deperimento » dei Susini.* « Boll. R. Staz. Pat. Veg. », n. s., XIV, 1934, pp. 339-381.

(3) Petri L., *Degenerazione e necrosi del cambio dei peri e dei meli nel Trentino e in Alto Adige.* « Boll. R. Staz. Pat. Veg. », n. s., XIV, 1934, pp. 281-326.

(4) Lindegg G., *Un deperimento dei ciliegi.* « Riv. Pat. Veg. », XXIII, 1933, pp. 1-12.

nei meli, ma non identici. Nei susini ammalati, infatti, si nota un'alterazione inizialmente limitata al libro che si estende successivamente al cambio ed al legno, accompagnata da altre particolarità anatomiche come: riduzione degli strati delle cellule che compongono il cambio, inizio della differenziazione dei tubi cribrosi a breve distanza dal cambio, formazione precoce del callo nei tubi cribrosi, accumulo di amido nei raggi midollari e nelle foglie. Tutti questi caratteri dimostrano l'esistenza di un disturbo nell'apparato linfatico discendente. Nei peri e nei meli, invece, si verifica una degenerazione del cambio: e cioè nelle piante ammalate questo tessuto meristematico ha perso la facoltà di differenziare verso la parte esterna gli elementi costitutivi del floema: tubi cribrosi e relative cellule annesse, parenchima liberiano, raggi midollari floematici; ed al suo posto si trova un tessuto (che va in seguito soggetto alla necrosi) e costituito di cellule parenchimatiche, di forma irregolare, invece del normale sottile strato di cellule trasformantisi gradualmente negli elementi del libro molle.

La malattia dei susini, in cui il carattere principale è quello dell'alterazione del floema o leptoma, l'ho io chiamata « leptonecrosi non parassitaria » (1), quella dei peri e dei meli l'ha chiamata il Petri « degenerazione e necrosi del cambio ».

Il tipo di deperimento segnalato dalla Dott.ssa Lindegg sui ciliegi è identificabile con quello dei susini. La presenza dei batterî segnalata dall'A. nei tessuti delle

(1) V. il mio lavoro del 1934 a pag. 376. Ho aggiunto al nome della malattia (leptonecrosi) la specificazione di « non parassitaria » poichè, è noto, in questi tessuti così alterati non si è potuto ancora svelare nè con la ricerca microscopica, nè con quella culturale, alcun parassita sia batterico che fungino, che possa essere incolpato quale agente patogeno. Se poi ulteriori ricerche potessero dimostrare la non attendibilità di questa asserzione il secondo termine del nome dovrebbe essere mutato od abolito, ma non il primo, dato che la necrosi del floema è un fenomeno, sia esso di origine non parassitaria o meno, indiscutibilmente accertato.

piante ammalate costituisce con ogni evidenza un epifenomeno, che va tenuto ben distinto dalla causa primaria

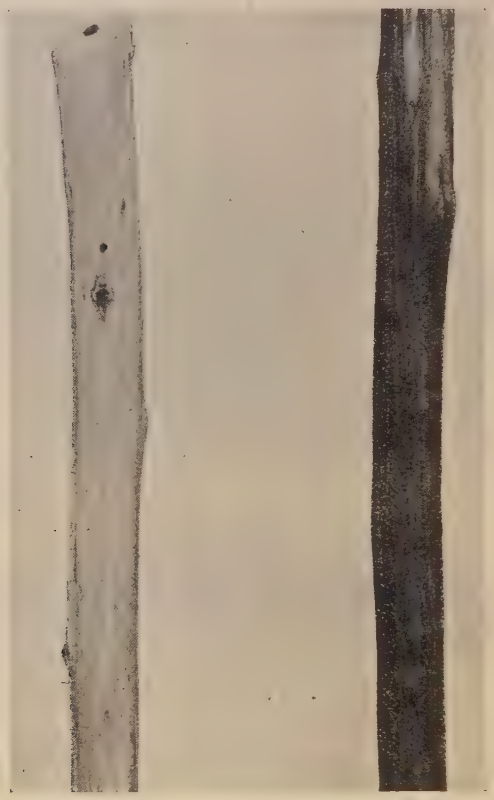


Fig. 1. — Rami di ciliegio « Duracino tardivo » colpiti da leptonecrosi. In quello di destra è stato tolto il ritidoma per far vedere l'alterazione del tessuto liberiano; in quello di sinistra è stato messo a nudo il legno che, come si vede, non è alterato.

(Materiale proveniente dal podere del Dott. Dalaiti, situato a Lavino di Mezzo presso Bologna; fot. il 5-6-1934 - XII).

della malattia: la necrosi del libro. Io ebbi occasione di osservare tale malattia dei ciliegi in un impianto situato a Lavino di Mezzo presso Bologna: il caso mi ha

favorito perchè erano state colpite piante di ogni età e fra le altre alcune molto giovani, di pochi anni. Su queste ultime [di cui riporto (v. fig. 1) perchè ritengo interessanti, le fotografie che allora feci delle parti ammalate in confronto di quelle sane] ho potuto eseguire delle accurate ricerche sia culturali che anatomiche. I risultati sono stati: 1) l'esclusione della presenza di parassiti; cosa questa abbastanza agevole a dimostrarsi dato che le piante erano assai piccole e potevano, quindi, essere esaminate in tutte le sue parti(1); la somiglianza delle caratteristiche patologiche con quelle verificate nei susini.

A questo proposito devo dire che la grande morìa che si verifica negli ultimi anni nei ciliegi della regione emiliano-romagnola e forse anche di altre regioni, non è dovuta a leptonecrosi. In seguito alle ripetute richieste di informazioni da parte degli agricoltori ho visitato nell'estate scorsa parecchie zone in cui la morte delle piante aveva assunto una frequenza veramente rilevante. Se, per varie ragioni, non ho potuto procedere ad uno studio accurato della moria, ho constatato, in ogni modo, che in genere non è frequente la leptonecrosi e che il disseccamento delle piante non è dovuto ad un attacco di parassiti specifici. Non è improbabile che possa trattarsi di un fenomeno simile a quello segnalato dal Wartenberg (2) per i ciliegi delle Marche della bassa Elba, in cui si manifesta ora una grande mortalità in conseguenza dei forti freddi verificatisi nell'inverno 1928-1929.

---

(1) Nelle piante adulte invece era facile riscontrare zone ripiene di batterî (specialmente quelle in cui si era iniziato l'attacco da parte di insetti xilofagi) o in cui erano presenti miceli di varî funghi. Tutti questi organismi erano, nelle piante studiate, effetto di infezioni secondarie.

(2) Wartenberg H., *Ueber das Obstbaumsterben in den Niederelbischen Marschen.* « Die Landwirtschaft », N. 34, Beilage zum Stader Tageblatt vom 22-8-1930.

***

Oltre che sui ciliegi ho verificato la presenza della leptonecrosi sugli albicocchi (1); mi intratterrò specialmente sulle condizioni ambientali in cui si trovavano le

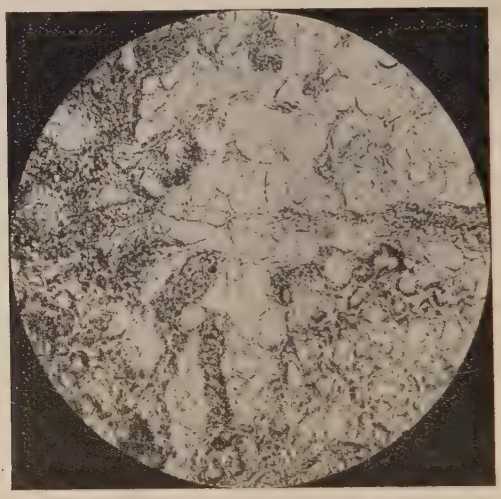


Fig. 2. — Microfotografia di una sezione fatta attraverso il floema alterato di un albicocco.

piante ammalate, condizioni che ritengo di interesse per lo studio delle cause che producono o favoriscono la comparsa della leptonecrosi stessa.

Le piante crescevano nel podere denominato « Due colline » dei Signori Bufferli, situato a Dozza Imolese presso Bologna, su una costiera esposta a mezzogiorno. Il terreno è calcareo-argilloso (15-20% di calcare) compatto e di natura siccitoso, abbondantemente concimato. Gli albicocchi su cui quest'anno si è verificato il deperimento erano due grosse piante di circa 20-25 anni, innestate sul mirabolano, che hanno sempre abbondantemente fruttificato. Particolare interessante da rilevare è

(1) Ringrazio qui il collega Dr. C. Cappucci del R. Istituto Superiore Agrario di Bologna, che mi inviava cortesemente e ripetutamente materiale di studio.

che nelle vicinanze di questi albicocchi ammalati esistevano parecchi susini *Burbank* essi pure, e da parecchi anni, colpiti da leptonecrosi.

Fig. 3. — Ramo di albicocco della varietà « Reale d' Imola » in cui è stato tolto una parte di corteccia per mostrare l' alterazione del libro, caratteristica della malattia.
(Materiale proveniente dal podere « Due colline » dei Sigg. Bufferli, situato a Dozza Imolese presso Bologna; fot. il 7-12-1934 - XIII).

Sulle condizioni anatomiche poco vi è da dire. Non si rilevano diversità sostanziali da quelle presentate dai tessuti dei susini (V. fig. 2) e perciò rimando alle descrizioni che ho fatto di quest'ultime in altre occasioni.

In figg. 3 e 4 sono rappresentati due rami in cui è stato tolto in un punto il libro in modo da mettere allo sco-

Fig. 4. — Come in fig. 3; si nota qui che l'alterazione del libro non è uniforme, essendo più marcata dalla parte sinistra. (Prov. e fot. come in fig. 3).

perto il legno sottostante. Si vede chiaramente, in modo particolare in fig. 3, che l'alterazione rossastra-ferruginea è limitata ad una zona mediana del libro e che il legno è assolutamente normale. In fig. 4 si vede, poi,

come l'alterazione non sia di eguale intensità in tutta la sezione, ma in certe parti sia marcata più ed in altre meno: nel caso fotografato, ad esempio, più dalla parte sinistra.

Come ho detto, presenta un certo interesse lo studio delle condizioni ambientali in cui vivevano le piante. L'esposizione di esse su una costiera a mezzogiorno ci fa supporre come molto poco probabile che abbiano sofferto freddi intensi o per lo meno freddi tali da spiegare una simile azione nociva. Il fatto che le piante vivessero in un terreno lautamente concimato (ogni 3 anni con letame e sovesci di favette concimate con 6-7 q.li di scorie per Ha), fa escludere anche si tratti o che possa influire una carenza di nutrizione. Il manifestarsi della leptonecrosi a circa una ventina di anni dopo l'innesto (dall'esame dei tessuti si può vedere che l'alterazione anche nelle parti di piante più colpite non risale a molto tempo prima) non lascia facilmente invocare in questo caso un'azione, che si rilevi solo dopo parecchio tempo, di inadattabilità fra soggetto ed innesto, sebbene che questa causa, allo stato attuale delle ricerche su queste malattie, sembri la più probabile. Inoltre va notato che gli albicocchi si sono ammalati da leptonecrosi in un luogo in cui precedentemente la stessa malattia si era manifestata sui susini.

***

È indubbiamente molto pericoloso il lasciarsi portare nel campo delle ipotesi. Ma dato che le spiegazioni che si possono dare della causa o delle cause determinanti questa malattia sono fin'ora solamente ipotesi, è lecito esporne ancora un'altra, per la quale starebbero in appoggio diversi fenomeni osservati: e precisamente che ci troviamo di fronte ad un particolare caso di malattia da *virus*.

Ripeto che quanto ho detto non è che una pura ipotesi,

che le ricerche future potranno confermare od abbattere, e come tale va accolta.

Il primo punto da risolvere in questo indirizzo è se la malattia è infettiva e trasmissibile o no. Per tale scopo ho di già predisposto delle esperienze, impiantando alcuni giovani susini *Burbank* completamente sani su cui saranno nel prossimo anno innestati rami o parti di tessuti di rami infetti ed inoculati i succhi estratti mediante pressatura dei tessuti alterati.

È mia speranza di giungere coi risultati che otterrò da tali ricerche, a delle conclusioni interessanti specialmente per lo studio dei mezzi di lotta.

RIASSUNTO

Durante l'anno 1934 fu osservata la leptonecrosi non parassitaria anche nei ciliegi e negli albicocchi.

Per i caratteri esterni ed interni presentati dalle piante ammalate si ritiene questa malattia eguale a quella osservata nei susini, e già descritta dall'A.

Sono esposte anche alcune considerazioni sulle possibili cause della malattia, su cui nei prossimi anni verranno continuate le ricerche.

R. Stazione di Patologia Vegetale
Roma, Dicembre 1934-XIII.

G. Goidànich.

SUMMARY

Non parasitic leptonecrosis of cherry- and apricot-trees was observed during the year 1934 in Emilia, country of Italy.

For the external and internal characters the disease coincides with the leptonecrosis of plum-trees.

Autor's opinions of the possible causes of this decay are also exposed.

NOTIZIE VARIE

Movimento del personale.

In seguito a concorso il Dott. Giulio Savastano è stato nominato, a datare dal 1° Agosto 1934, Direttore della R. Stazione Sperimentale di Olivicoltura ed Oleificio di Pescara.

Il Dott. Giovanni Borzini, a datare dal 1° Giugno 1934, è stato nominato Sperimentatore presso questa R. Stazione.

La borsa di studio che il Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste aveva assegnato al Dott. Gabriele Goidànich presso il R. Osservatorio per le malattie delle piante di Bologna è stata trasferita, dietro domanda dell'interessato, presso questa R. Stazione a datare dal 1° Ottobre 1934.

INDICE DELL'ANNATA

Lavori originali.

BIRAGHI A., Sul significato biologico dei presunti « appressori » nel genere *Gloeosporium* . . . . . *Pag.* 202

— Variazioni in due ceppi di *Gloeosporium olivarum* Alm. di provenienze diverse . . . . . » 223

— Intumescenze di origine interna su foglie di Agave. » 389

— Ricerche citologiche sul processo di germinazione delle clamidospore di *Urocystis tritici* Koern . . » 399

— Esperienze sulla formazione di sughero delle ferite in porzioni di tuberi di patata irradiate con raggi ultravioletti. . . . . » 492

CURZI M., Lo *Stereum purpureum* Pers. nel mal del piombo in Italia . . . . . » 117

— De fungis et morbis africanis . . . . . » 173

GIGANTE R., Ricerche sulla morfologia, la biologia e la posizione sistematica del fungo che è stato descritto come *Macrophoma dalmatica* . . . . . » 125

— Fenditure di origine non parassitaria nei tralci della vite. . . . . » 211

— La maculatura grigia interna dei tuberi di patata. » 256

— Un caso di elevata recettività per le malattie da virus presentato da piante di patata provenienti da riproduzione sessuale . . . . . » 334

— Il mosaico della zucca . . . . . » 503

GOIDANICH G., La verticilliosi dell'*Acer platanoides* L., dell'*Acer pseudoplatanus* L. e della *Maclura aurantiaca* L. . . . . » 268

— Ricerche sul « deperimento » dei susini. . . . » 339

— Un marciume delle pesche causato da due specie di *Fusarium* (*Fusarium herbarum* (Corda) Fr., f. *1* Wr. e *Fusarium Poae* (Peck) Wr.) . . . . . » 475

— La leptonecrosi dei ciliegi e degli albicocchi . . » 531

PETRI L., Micropressa per l'estrazione di succhi da tessuti freschi . . . . . » 254

— Degenerazione e necrosi del cambio dei peri e dei meli nel Trentino e in Alto Adige . . . . . » 281

— Deperimenti di viti in Puglia causati da un'acariosi. » 382

Rocci U., Contributo alla lotta contro la *Tortrix pronubana* Hb. . . . . *Pag.* 416
Savastano G., Ricerche fisiologiche sul raggrinzimento delle drupe dell'olivo . . . . . » 79
Sibilia C., « Saltazioni » in *Heterosporium gracile* . . » 447

Articoli, Relazioni e Riviste sintetiche.

Breazzano A., Alcune osservazioni sulle decisioni prese dalla Riunione di esperti tenutasi in Berlino nel 1930 per la discussione dei metodi di analisi tossimetrica delle sostanze conservatrici del legno. . *Pag.* 185
Petri L., Rassegna dei casi fitopatologici osservati nel 1933. » 1
— Sull'arricciamento (court-noué) della vite . . . » 273
Sibilia C., Relazione sulle esperienze di lotta diretta contro le ruggini del grano . . . . . » 327

Recensioni.

Sorauer's Handbuch der Pflanzenkrankheiten (6.ª Ediz. diretta dal prof. Dr. O. Appel, 1 vol., 2.ª parte: Le malattie parassitarie e da virus) (L. P.). . . . *Pag.* 279
Krankheiten des Weinstockes (Appel O. und Zschokke A.). » 397
Le malattie crittogamiche delle piante coltivate (Peglion V., 6.ª Ediz.). . . . . » 397

Indice alfabetico degli Autori.

Biraghi A., pagg. 202, 223, 389, 399, 492.
Breazzano A., pag. 185.
Curzi M., pagg. 117, 173.
Gigante R., pagg. 125, 211, 256, 334, 503.
Goidanich G., pagg. 268, 339, 475, 531.
Petri L., pagg. 1, 254, 273, 279, 281, 382, 397.
Rocci U., pag. 416.
Savastano G., pag. 79.
Sibilia C., pagg. 327, 447.

Altre pubblicazioni del personale della R. Stazione di Patologia Vegetale nell'anno 1934.

PETRI L., Direttore della R. Stazione di Patologia vegetale:

Il « mal secco » dei limoni « Atti del Congresso Agricolo Siciliano tenuto a Catania il 10 Ottobre 1934-XII ».

Le malattie crittogamiche dell'olivo « Atti del Convegno di Olivicoltura meridionale in Bari » 1934.

Le malattie della Sughera prodotte da parassiti vegetali o da cause inorganiche. « Atti del Congresso pel sughero in Sassari » 1934 (1).

La difesa della produzione floricola nel campo fitopatologico. « Atti del Convegno di floricultura in San Remo » 1934 (1).

I Servizi fitopatologici in Italia. « XVI Congresso Intern. di Agricoltura di Budapest », Giugno 1934.

CURZI M., Vicedirettore:

Un'Aspergillacea ad Ascospore stellate. « Rendic. R. Acc. Naz. Lincei », Cl. Scienze fis. mat. e nat, vol. XIX, marzo 1934.

Le malattie da virus delle piante. « Annali di Tecnica Agraria », VII, fasc. II-III e IV, 1934.

Proprietà e natura dei virus delle piante. « Rivista di Biologia », XVI, f. II, 1934.

Una grave infezione da *Phytophthora* dei Peschi. « Rendic. R. Acc. Naz. Lincei », Cl. Scienze fis. mat. e nat., vol. XIX, giugno 1934.

SIBILIA C., Sperimentatore:

Sulla costituzione biotipica della *Puccinia triticina* Erikss. in Italia. « Rendic. R. Acc. Naz. Lincei », Cl. Scienze fis. mat. e nat., vol. XIX, gennaio 1934.

La sessualità in alcune specie del genere *Chaetomium*. « Rendic. R. Acc. Naz. Lincei », Cl. Scienze fis. mat. e nat., vol. XIX, gennaio 1934.

Le ricerche sulla specializzazione delle ruggini del grano in Italia. « L'Italia Agricola », giugno 1934.

BIRAGHI A., Sperimentatore:

Ricerche citologiche sulla germinazione delle clamidospore di *Urocystis tritici* Koern. « Rendic. R. Acc. Naz. Lincei », Cl. Scienze fis. mat. e nat., vol. XX, novembre 1934.

---

(1) Si ignora se gli Atti qui citati sieno stati pubblicati.

ERRATA

Pag. 170: Riccardo S., *Secondo contributo allo studio di una malattia che danneggia le olive in Calabria: Macrophoma dalmatica* (Thüm.) Berl. e Vogl. « Annali R. Ist. Sup. Agr. Portici », III S., VI, pagg. 209-216, 1933.

CORRIGE

» Riccardo S., *Secondo contributo allo studio di una malattia che danneggia le olive in Calabria: Macrophoma dalmatica* (Thüm.) Berl. e Vogl. « Annali di Tecnica Agraria », VI, pagg. 209-216, 1933.

Prof. Lionello Petri, *Direttore responsabile*